

**Der Einfluß der Prolaktinhemmung mit CB-154
auf die lysosomalen Enzyme im Eutersekret des Rindes
und
auf das Ingangkommen der Ovarfunktion
in der Post-partum-Phase**

Josef Stangl

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551925_0064

Aus dem Institut für Physiologie
der Südd. Versuchs- und Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft Weihenstephan
der Technischen Universität München

Direktor: Professor Dr. Heinrich Karg

Der Einfluß der Prolaktinhemmung mit CB-154
auf die lysosomalen Enzyme im Eutersekret des Rindes
und
auf das Ingangkommen der Ovarfunktion
in der Post-partum-Phase

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Josef Stangl
aus Wurz/Obpf.

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme
Referent: Prof. Dr. H. Karg
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. J. Rüsse

Tag der Promotion: 26. Juli 1974



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Vorbemerkung	1
2. Literaturteil	2
2.1. Lysosomen und lysosomale Enzyme	2
2.2. Die Bedeutung von Prolaktin für die Milchdrüse und Laktation	3
2.2.1. Prolaktin als Hypophysenhormon	3
2.2.2. Mammogenese	4
2.2.3. Laktogenese	5
2.2.4. Galaktopoesis	5
2.3. Artefizielle Hemmung der Prolaktin- sekretion	6
2.3.1. Einfluß der Prolaktinhemmung auf die Laktogenese	7
2.3.2. Einfluß der Prolaktinhemmung auf die Galaktopoesis	8
2.4. Phase des Trockenstehens	9
2.4.1. Typen der Regression	9
2.4.2. Biochemische Veränderungen	10
2.4.3. Histologische Veränderungen	11
2.4.4. Beeinflussung der folgenden Laktation	13
2.5. Ingangkommen der Laktation	14
2.6. Die Post-partum-Phase des Rindes	15
2.6.1. Uterusinvolution	15
2.6.2. Follikelwachstum, Ovulation und Östrus	16

	Seite
3. Methodischer Teil	19
3.1. Tiermaterial	19
3.2. Probenentnahme	20
3.2.1. Milchproben	20
3.2.2. Blutproben	21
3.3. Rektale Untersuchung	21
3.4. Bestimmung lysosomaler Enzyme im Eutersekret	22
3.4.1. Bestimmung der sauren Phosphatase	22
3.4.2. Bestimmung des Kathepsin D	24
3.4.3. Bestimmung der β -Glucuronidase	26
3.5. Bestimmung von Prolaktin	28
3.6. Bestimmung von LH	28
3.7. Bestimmung von Progesteron	29
3.8. Messung der Milchmenge	29
4. Eigene Versuche	30
4.1. Vorversuche zur Enzymbestimmung	30
4.1.1. Empfindlichkeit der Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D gegenüber äußeren Einflüssen	30
4.1.2. Verdünnungsproben	30
4.1.3. Die Enzymaktivitäten im Sekret der vier Euterviertel	31
4.1.4. Die Enzymaktivitäten im Anfangs-, Mittel- und Endgemelk	32

	Seite
4.2. Die Aktivität der lysosomalen Enzyme im Eutersekret vom Laktationsende bis zum 12. Tag p.p. bei unbehandelten Tieren	33
4.3. Die Aktivität der lysosomalen Enzyme im Eutersekret vom Laktationsende bis zum 9. Tag p.p. bei mit einem Prolaktinhemmer behandelten Tieren	39
4.4. Einfluß der Prolaktinhemmung auf die Komponente "X"	49
4.5. Einfluß der Prolaktinhemmung auf die Laktogenese beim Rind	51
4.6. Einfluß der Prolaktinhemmung auf das Ingangkommen der Ovarfunktion in der Post-partum-Phase beim Rind	57
5. Diskussion	68
6. Zusammenfassung	79
7. Literaturverzeichnis	83

1. V o r b e m e r k u n g

Die Hormonanalytik hat in den letzten Jahren vor allem durch die Möglichkeit der radioimmunologischen Technik enorme Fortschritte gemacht. Nachdem auch für Prolaktin ein Radioimmunotest entwickelt worden war, konnten Fragen der Sekretion dieses laktogenen Hormons aus der Hypophyse erstmals experimentell-analytisch angegangen werden. Mit dem 2-Br- α -Ergokryptin-Methansulfonat (CB-154) wurde eine Substanz erprobt, die die Prolaktinsekretion beim Rind spezifisch inhibiert. Frühere Versuche am hiesigen Institut mit dieser Substanz ließen vermuten, daß es durch Prolaktinhemmung um den Geburtszeitpunkt zu einer über den Geburtszeitpunkt hinaus verlängerten Regression der Milchdrüse kommt. Zu dieser Annahme berechtigten unter anderem die verminderte Milchleistung und die veränderte Zusammensetzung der Milch nach Anwendung des Prolaktinhemmers.

Aufgabe folgender Arbeit war es, diese Versuche fortzusetzen, dabei aber zusätzlich biochemische Parameter anzuwenden. Für die Dauer und Intensität der Regressionsvorgänge an der Mamma sollten die Enzymaktivitäten der lysosomalen Enzyme, saure Phosphatase und Kathepsin D im Eutersekret des Rindes dienen.

2. L i t e r a t u r t e i l

2.1. Lysosomen und lysosomale Enzyme

Die Lysosomen wurden 1955 von de DUVE, PRESSMAN, GIANETTO, WATTIAUX & APPLEMANs entdeckt. Beim Zentrifugieren von Leberhomogenaten von Ratten fanden sie in der Fraktion der Mitochondrien eine Gruppe von hydrolytisch wirksamen Enzymen. Man glaubte, daß die Enzyme einer besonderen Art von zytoplasmatischen Granula, mit einem Durchmesser von 0,2 bis 0,4 μ ($= 10^{-6}$ m), angehören und verschiedene biologische Substrate abzubauen haben. Daher wurden diese Granula als Lysosomen bezeichnet (de DUVE et al. 1955). De DUVE und Mitarbeiter beobachteten auch, daß die hydrolytisch wirksamen Enzyme nur aktiv wurden, wenn die Granula durch Osmose, Einfrieren oder durch Detergentien beschädigt wurden. Sie schlossen daraus, daß die Lysosomen von einer Lipoproteinmembran umgeben sind, die den Eintritt von externen Substraten verhindert. Diese Eigenschaft, das "Verborgensein" der Enzyme bei Intaktheit der Granula, bezeichnen de DUVE et al. (1955) als sehr charakteristisch für die Lysosomen.

Zu den lysosomalen Enzymen zählen die saure Phosphatase, saure Ribonuclease, saure Desoxyribonuclease, β -Glucuronidase und Kathepsin. Es wurden aber außerdem auch noch etwa zehn andere Enzyme beschrieben.

Die Lysosomen sind praktisch im ganzen Organismus aufzufinden. Sehr zahlreich sind sie vorhanden in den Epithelzellen von Absorptions-, Sekretions- und Exkretionsorganen (z.B. Niere, Leber,

Prostata, Nebenhoden). Eine beachtliche Anzahl findet sich auch noch in den Epithelzellen des Intestinums, der Lunge, des Uterus und in den Nervenzellen. Wenig Lysosomen wurden in den Muskelzellen und im Pankreas beobachtet. Eine große Zahl von Lysosomen ist dagegen wieder in den Phagozyten und Makrophagen anzutreffen.

Die Aufgaben der Lysosomen und lysosomalen Enzyme sind sehr vielseitig. Sie bestehen vor allem in der Resorption von Eiweiß, Fett, Nukleinsäuren, Viren und anderen Makromolekülen. Welche Rolle Lysosomen und Enzyme bei der Regression der Mamma spielen, ist im Kapitel 2.4.3. dargestellt.

2.2. Die Bedeutung von Prolaktin für die Milchdrüse und Laktation

2.2.1. Prolaktin als Hypophysenhormon

Daß die Hypophyse eine laktogene Aktivität besitzt, haben zuerst STRICKER & GRUETER (1928) beim Kaninchen nachgewiesen. Erst ein paar Jahre später gelang es RIDDLE, BATES & DYKSHORN (1933) einen teilweise gereinigten Extrakt zu gewinnen. Die laktogene Wirksamkeit dieses Extraktes wurde mit Hilfe des Taubenkropfsack-Testes nachgewiesen. RIDDLE et al. bezeichneten dieses neue Hormon als Prolaktin.

2.2.2. Mammogenese

Die Milchdrüse ist im frühembryonalen Stadium als Milchleiste analog bei beiden Geschlechtern vorhanden. Nach NEUMANN, VON BERSWORDT-WALLRABE, ELGER, STEINBECK, HAHN & KRAMER (1970) hängt die Differenzierung der Milchdrüse in weibliche oder männliche Richtung nur davon ab, ob in einer bestimmten Phase der Foetalentwicklung Androgene wirksam werden oder nicht.

Von der Geburt bis zum Einsetzen der Pubertät ist das Wachstum der Milchdrüse sehr gering. Man bezeichnet diese Zeitspanne auch als die ruhende Phase der Drüsenentwicklung. Das Wachstum der Ausführungsgänge ist bei den einzelnen Tierarten sehr verschieden. Beim Rind kommt es in dem Stadium zu einer, wenn auch geringen Differenzierung.

Das weitere Wachstum der Mamma erfolgt während der Pubertät und ist eng mit dem Sexualzyklus verbunden. In dieser Zeit wurde die Größenzunahme der Milchdrüse im Vergleich zur Zunahme der Körperoberfläche bei zahlreichen Tierarten untersucht. Es wurde festgestellt, daß die Oberfläche der Mamma um das drei- bis vierfache (bei der Ratte) bzw. fünf- bis achtfache (bei der Maus) schneller zunimmt als die Körperoberfläche (COWIE 1971).

Um abzuklären, welche Hormone bei der Milchdrüsenentwicklung eine Rolle spielen, wurden zahlreiche Versuche mit Exstirpation endokriner Drüsen und nachfolgender Substitution von Hormonen oder Hormonkombinationen sowie Transplantationen

von Milchdrüsen unternommen. Durch Versuche an Ratten, bei denen der Hormonbedarf dreifach operierter Tiere (Exstirpation von Hypophyse, Ovarien und Nebennieren) hinsichtlich der Mammaentwicklung festgestellt wurde (LYONS, LI, JOHNSON 1958; NANDI 1959), kam man schließlich zu der Ansicht, daß ein Komplex von Hormonen für das physiologische Mammawachstum notwendig ist. Zu diesem Hormonkomplex zählen die Hormone des Ovars (Östrogene, Progesteron), Prolaktin, das Wachstumshormon und die Nebennierenrindenhormone (Corticoide).

2.2.3. Laktogenese

Ebenso wie bei der Mammogenese ist auch für die endokrine Steuerung der Laktogenese (Milchbildung und Sekretion in den Alveolen) ein Komplex von Hormonen verantwortlich. Die primären Hormone sind, wie Versuche bei Mäusen (NANDI 1959), Ratten (LYONS et al. 1958) und Ziegen (COWIE, TINDAL 1961), bei denen die Hypophyse, die Ovarien und die Nebennieren entfernt wurden, zeigten, Prolaktin und Cortisol bzw. Corticosteron. Synergistische Bedeutung haben noch Wachstumshormon, Schilddrüsenhormon (COWIE 1969) und auch Insulin (RIVBRA 1964).

2.2.4. Galaktopoesie

Für die Galaktopoesie, d.h. die Aufrechterhaltung einer bereits in Gang gekommenen Laktation, sind ebenfalls die Hormone des laktogenen Komplexes verantwortlich. Zusätzlich zu dieser hormonalen

Stimulierung ist für die Aufrechterhaltung der Laktation in jedem Fall der kontinuierliche Milchentzug erforderlich.

Injektionen von Schafprolaktin allein zeigten weder bei der Kuh, noch bei der Ziege einen galaktopoetischen Effekt. Dagegen bewirkt Wachstumshormon einen signifikanten Anstieg der Milchleistung gegen Ende der Laktation (COWIE 1966).

2.3. Artefizielle Hemmung der Prolaktinsekretion

Nachdem man festgestellt hatte, daß gewisse Mutterkornalkaloide (Ergokornin, Ergotoxin, Ergokryptin) bei weiblichen Ratten implantationshemmend wirken und zu einer Unterbrechung der Trächtigkeit führen, gelang es, diesen Effekt durch exogene Zuführen von Progesteron (SHELESNYAK 1954, 1956) bzw. Prolaktin (SHELESNYAK 1958) zu unterbinden.

ZEILMAKER & CARLSEN (1962) schlossen daraus, daß diese antifertile Wirkung der Ergotalkaloide auf einer Hemmung der Prolaktinfreisetzung beruhen müsse.

Neben dieser antifertilen Wirkung der Ergotalkaloide konnte auch eine Hemmung der Laktation bei Ratten nach Verabreichung von α -Ergokryptin bzw. 2-Br- α -Ergokryptin (FLÜCKIGER, WAGNER 1968) und Ergokornin (SHAAR, CLEMENS 1972) nachgewiesen werden.

Die Wirkung der Mutterkornalkaloide scheint

auf einer Hemmung der Prolaktinfreisetzung zu beruhen. Als Wirkungsort wird die Hypophyse angenommen (MALVEN, HOGE 1971; LU, KOCH, MEITES 1971).

2.3.1. Einfluß der Prolaktinhemmung auf die Laktogenese

SCHAMS & KARG (1969) konnten einen steilen Prolaktinanstieg beim Rind 24-30 Stunden vor der Geburt nachweisen. Es war nun von Interesse zu klären, ob dieser Prolaktینگipfel mit dem Einsetzen der Laktation im Zusammenhang steht, oder ob er eine funktionelle Bedeutung für die Geburt hat.

SCHAMS, REINHARDT & KARG (1973) behandelten drei trächtige Kühe der Braunviehrasse zwei bis drei Wochen vor dem offiziellen Geburtstermin mit dem synthetischen Ergotalkaloid 2 - Br - α - Ergokryptin-Methansulfonat (CB - 154). Mit dem Einsetzen der CB - 154 - Behandlung sank der Prolaktinspiegel im Blut auf minimale Basiswerte ab und blieb bis etwa drei Wochen nach der letzten Injektion unten. Der charakteristische Prolaktینگipfel vor der Geburt konnte nicht nachgewiesen werden. Die Geburt und das Puerperium verliefen normal. Der Geburtsgipfel dürfte also nur eine symptomatische, aber keine funktionelle Bedeutung für die Geburt haben. Es zeigte sich jedoch bei allen drei Kühen ein negativer Einfluß auf das Einsetzen der Laktation. Beim Vergleich der ersten 20 Gemelke mit denen des Vorjahres (unbehandelt) ergab sich eine Abnahme der Milchleistung von 46,9 % bis 95 %. Zwei Kühe erreichten

die Vorjahresleistung nach 18 bzw. 49 Tagen, eine Kuh erreichte sie nicht mehr.

Die Milchezusammensetzung zeigte im Vergleich zu normaler Kolostralmilch einen niedrigeren Laktosegehalt und einen erhöhten Proteingehalt. Bei der elektrophoretischen Auftrennung der Caseinfraction trat eine zusätzliche Komponente "X" auf, die in normaler Kolostralmilch oder normaler Milch nicht vorkommt (KIRCHMEIER 1974).

2.3.2. Einfluß der Prolaktinhemmung auf die Galaktopoese

SCHAMS et al. (1973) untersuchten den Einfluß einer einwöchigen Behandlung mit CB-154 auf die Galaktopoese an zwei Kühen der Braunviehrasse. Die Prolaktinwerte fielen bereits am ersten Tag auf minimale Basiswerte ab und blieben so bis zum achten Tag nach der Injektion. Die Milchleistung sank während der Versuchswochen um 13,6 % bzw. 14,1 %. Die chemische Zusammensetzung der Milch zeigte keinerlei Veränderungen.

Bei einem Versuch mit 16 Kühen der Braunviehrasse, die aufgrund ihrer Laktationsstadien in vier Gruppen eingeteilt waren, zeigte sich, daß die Laktationshemmung durch CB-154 in einem früheren Laktationsstadium weniger deutlich ausgeprägt ist als in einem späteren. Der maximale Milchleistungsabfall betrug 16,8 %

2.4. Phase des Trockenstehens

2.4.1. Typen der Regression

Die Regression der Mamma kann, je nach den Umständen, unter denen sie erfolgt, schnell oder langsam vor sich gehen.

Im Verlaufe einer normalen Laktation nimmt sowohl das Gesamtvolumen als auch die sekretorische Aktivität des Parenchyms ab. Bei der laktierenden Maus nehmen die DNA im Eutergewebe und das Verhältnis RNA/DNA vom 14. Tag der Laktation an ab (MIZUNO 1961), während sich bei der Ratte der Alveolardurchmesser bereits vom 2. Tag der Laktation an verringert (BÄSSLER, FLÖRCHINGER 1966 a, b). Bei der Kuh kommt es im Verlauf der Laktation zu einer Verkleinerung der Lobuli, die mit einer Zunahme des Stromas einhergeht; die Gesamtfläche der Alveolen nimmt proportional zur Milchleistung ab (SCHMIDT, CHATTERTON, HANSEL 1962).

Offensichtlich ist die Intensität dieser Veränderungen von der Tierart und der Länge der Laktation abhängig. Zu einer sehr intensiven und tiefgreifenden Regression des Eutergewebes kommt es dann, wenn absichtlich oder zufällig der Saug- oder Melkreiz plötzlich aufhört, d.h. bei Frühentwöhnung. Der Grad der Regression hängt hier wiederum davon ab, in welchem Laktationsstadium, ob am Höhepunkt der Laktation, am Anfang oder gegen Ende der Laktation der Saug- oder Melkreiz aufhört (COWIE, TINDAL 1971).

2.4.2. Biochemische Veränderungen

Über die Biochemie der Mamma gibt es zahlreiche Arbeiten. Allerdings handelt es sich dabei vorwiegend um Untersuchungen an der Mamma von Laboratoriumstieren. Über die Milchdrüse beim Rind gibt es u.a. Arbeiten von WALDSCHMIDT (1973) und WALDSCHMIDT & RILLING (1973). Sie bestimmten einige Enzymaktivitäten und Zwischenstoffkonzentrationen des Citratzyklus unter verschiedenen physiologischen Bedingungen.

BALDWIN (1966) untersuchte 20 Enzyme beim Rind an Hand von Biopsieproben 14 Tage vor und nach dem Einsetzen der Laktation; dabei konnten keine signifikanten Veränderungen der Aktivität festgestellt werden. Die hohe Enzymaktivität ante partum allerdings läßt vermuten, daß bei der Kuh biochemische Veränderungen schon früher eintreten und nicht erst mit Beginn der Laktation. BALDWIN (1966) folgerte, daß bei der Kuh beim Einsetzen der Laktation keine so raschen zellulären und enzymatischen Veränderungen auftreten wie bei den anderen untersuchten Spezies.

BALDWIN & CHENG (1969) diskutierten, daß an der Regulation der Laktogenese u.a. ein oder mehrere intramammäre Systeme beteiligt sind und das Einsetzen der Laktation von einer Änderung im Blutdurchfluß durch die Milchdrüse oder von Änderungen der Konzentration der "Milchvorläufer" herrührt.

2.4.3. Histologische Veränderungen

Wie bereits unter 2.4.1. erwähnt, ist die Regressionsdauer tierartlich verschieden und dauert von 15 Tagen bei der Maus (SEKHRI, PITELKA, DE OWE 1967) bis zu 48 Tagen bei der Ziege (TURNER 1952).

Bei den kleinen Laboratoriumstieren kommt es 24 bis 48 Stunden nach Wegnehmen der Jungen zu einem Milchstau, einer intrazellulären Stasis von Milchproteinen und zu Veränderungen der zytoplasmatischen Strukturen (HELMINEN, ERICSSON 1970). Dieser Milchstau führt durch den hydrostatischen Druck und die Mangeldurchblutung zu degenerativen Veränderungen an den Alveolarepithelzellen, die sich strecken und abflachen; die Alveolen werden dadurch sehr stark gedehnt und erweitert. In den Epithelzellen kommt es zu einer Vakuolenbildung als Zeichen der Autophagie und schließlich zur Nekrose der Zellen. Nach etwa fünf Tagen fallen die Alveolen zusammen, Phagozyten wandern ein und allmählich kommt es gleichzeitig mit der Zunahme des Stromas zu einem Verschwinden der Läppchenstruktur und damit zu einer allgemeinen Involution der Milchdrüse.

MAYBERRY (1964) beobachtete bei der Maus bis zum 5. Tag im intralobulären Stroma nur wenige Makrophagen (Überwiegen der Autophagie), ab dem 9. Tag stieg die Zahl der Makrophagen sehr stark an. Sie waren vor allem innerhalb und um die aufgelösten und zusammengebrochenen Alveolen zu finden und hatten die Aufgabe, Milchreste und nekrotische Zellen wegzuschaffen. Ab

dem 9. Tag war also ein Überwiegen der heterophagen Prozesse festzustellen.

Bei Schaf und Kuh scheinen die Makrophagen vor allem beim Wegschaffen des Fettes aus dem Euter eine Rolle zu spielen. Die Lipolyse geschieht vornehmlich innerhalb des Zytoplasmas der Makrophagen (LEE, MC DOWELL, LASCELLES 1969).

HELMINEN & ERICSSON (1971) haben bei der Ratte durch Abbinden der Milchgänge auf der einen Seite und Weitersaugenlassen der Jungen auf der anderen Seite einen Milchstau provoziert. Die mikroskopischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten die gleichen histologischen Veränderungen, wie sie bei der normalen Regression der Mamma beobachtet wurden. Die spezifische Aktivität von vier lysosomalen Enzymen (Kathepsin D, saure Phosphatase, Arylsulfatase und β -Glucuronidase) erreichte ihr Maximum zwischen Tag 3 und 7. Die saure Phosphatase wurde biochemisch in den Lysosomen und autophagen Vakuolen der Epithelzellen und in den Lysosomen der Makrophagen nachgewiesen. Diese Ergebnisse zeigen, daß der Milchstau allein im Stande ist, degenerative Veränderungen an den Epithelzellen der Milchdrüse hervorzurufen, die lysosomalen Enzyme in ihrer Gesamtaktivität ansteigen zu lassen und zu einer langsamen Involution der Milchdrüse zu führen.

HELMINEN & ERICSSON (1968) teilen aufgrund ihrer Untersuchungen die regressiven Vorgänge an der Mamma in eine frühere und eine spätere Phase ein. In der früheren Phase werden die degenerativen Veränderungen durch das Zusammenwirken von lysosomalen und nichtlysosomalen Komponenten hervorgerufen. Dabei scheinen die Lysosomen auf

zweierlei Weise mitzuwirken (WOESSNER JR. 1969): beiden autophagen Prozessen, die zu einer Reduktion des Zytoplasmas der Drüsenepithelzellen führen und bei den heterophagen Prozessen, wo die Makrophagen Zelltrümmer und Milchreste wegschaffen. Diese Aufräumarbeiten werden aber nicht allein durch die Lysosomen bewältigt, sondern es kommt daneben auch noch zu einer Diffusion von totem Material ins Interstitium und zum Abtransport über den Blut- und Lymphweg.

In der späteren Phase der Involution (HELMINEN, ERICSSON 1968) spielt die Heterophagozytose durch die Makrophagen die entscheidende Rolle

2.4.4. Beeinflussung der folgenden Laktation

Die Phase des Trockenstehens beim Rind ist für die kommende Laktation von großer Wichtigkeit. Sinkt die Trockenstehperiode merklich unter 7 Wochen ab, dann kann die Milchleistung um 30-50 % vermindert sein (SPANN 1954). Es wurden sogar Fälle von vollständiger Milchlosigkeit bekannt. Durchmelken oder zweimal täglich Ocytocininjektionen (SMIDTH, WHEELOCK, DODD 1966; GORMAN, SWANSON 1968) führen in der nächsten Laktation ebenfalls zu geringeren Leistungen. Allerdings kommt es in der im Vergleich zu anderen Tierarten immer noch relativ kurzen Trockenstehperiode des Rindes (normal 6 - 8 Wochen) zu keiner signifikanten Regression der Mamma, wie histometrische und biochemische Studien ergaben (SWANSON, PARDUE, LONGMIRE 1967). Aufgrund von wirtschaftlichen Erwägungen wird die Trockenstehperiode nicht über 8 Wochen ausgedehnt.

2.5. Ingangkommen der Laktation

Darüber, welche Hormone bei dem Ingangkommen der Laktation eine Rolle spielen, gibt es zwei Theorien. Die eine Theorie ist die, daß die Hormone des Ovars und der Placenta, welche das Euterwachstum fördern und das Anfangen der Laktation verhindern, durch ihren steilen Abfall in den letzten Tagen der Gravidität die Laktation auslösen (DESCLIN 1952). Diese Annahme stützt sich auf die Tatsache, daß trächtige Ratten, die ovar- oder hysterektomiert wurden, in Laktation kamen und daß es durch den Entzug der Steroidhormone bei noch nicht geschlechtsreifen Tieren zu einer Entwicklung des Eutergewebes kam (DESCLIN 1952). Die andere Anschauung, daß für das Ingangkommen der Laktation eine vermehrte Sekretion eines oder mehrerer anderer Hormone verantwortlich ist, wurde dadurch bestätigt, daß Injektionen von Hypophysenvorderlappenextrakt bei scheinträchtigen Kaninchen eine Laktation auslösten (STRICKER & GRUETER 1928).

Durch die Reindarstellung von verschiedenen Hormonen aus dem Hypophysenvorderlappen zeigte es sich, daß zu diesem sog. laktogenen Hormonkomplex Prolaktin, Wachstumshormon und Adrenocorticotropes Hormon zählen (COWIE 1961). Während nun einige Autoren eine direkte Hemmwirkung der Östrogene und des Progesterons auf die Milchdrüse überlegen (DESCLIN 1952; COWIE 1961), ist die heute vorherrschende Meinung die, daß es durch den Abfall der hemmenden Steroidhormone zu einer vermehrten Sekretion von Hypophysenvorderlappen-

hormonen kommt, die dann ihrerseits die Laktation auslösen (COWIE 1961). Nach KUHN (1970) kommt es durch den Abfall der hemmenden Steroidhormone zu einer Freigabe des Erfolgsorgans Mamma; erst dadurch können die Hypophysenvorderlappenhormone dort wirksam werden.

2.6. Die Post-partum-Phase des Rindes

2.6.1. Uterusinvolution

Die meisten Autoren, die die Uterusinvolution durch rektale Palpation kontrollierten, geben als Zeitraum für die Uterusinvolution zwischen 25 (MORROW, ROBERTS, MC ENTEE & GRAY 1966) und 50 Tagen (BUCH, TYLER & CASIDA 1955) an. MORROW, ROBERTS & MC ENTEE (1969 c) beobachteten bei einmal wöchentlicher Palpation, daß sich der Uterus vom 4. - 9. Tag nur langsam, vom 10. - 14. Tag an vermehrt zurückbildet. Nach 21 Tagen war die Involution praktisch abgeschlossen, wenn auch noch länger Unterschiede in den Wandstärken zwischen dem graviden und nichtgraviden Horn palpierbar waren. Das gravid gewesene Horn blieb etwas verdickt und erreichte nicht ganz den früheren Umfang.

RÜSSE (1968) fand bei insgesamt 104 Puerperien bei 34 Tieren eine Involutionsdauer unter 25 Tagen, bei 70 Tieren über 25 Tage. Dabei stellte er fest, daß bei Erstgebärenden und bei Kühen über 6 Jahren die Uterusinvolution langsamer vor sich geht.

Bei den histologischen Untersuchungen des Uterus werden von GIER & MARION (1968) und WAGNER & HANSEL (1969) als Involutionsdauer 25 bis 30 Tage angegeben. Die Karunkeln wurden zwischen dem 7. und 14. Tag p.p. zurückgebildet. Am 30. Tag p.p. waren die Karunkelnarben vollständig mit Epithel überzogen (WAGNER 1968; WAGNER, HANSEL 1969). Bei Mehrlingsgeburten und bei Schweregeburten war die Involution verzögert (MORROW, ROBERTS, MC ENTÉE 1969 a), ebenso bei Erkrankungen während des Puerperiums wie Festliegen, Nachgeburtshalten usw. (MORROW et al. 1966). Entfernen des Corpus luteum graviditatis, Ovaryektomie oder Saugenlassen der Kälber hatte keinen Einfluß auf die Involutionsdauer (OXENREIDER 1968).

2.6.2. Follikelwachstum, Ovulation und Östrus

Das Corpus luteum graviditatis nimmt nach der Geburt rasch an Größe ab. WAGNER & HANSEL (1969) maßen folgende Durchmesser: 7 Tage p.p. 12,7 mm, 14 Tage p.p. 9,3 mm und 30 Tage p.p. 8,5 mm. Andererseits nimmt mit dem Abstand zur Geburt die durchschnittliche Größe der Follikel zu. WAGNER & HANSEL (1969) berichten von 9,6 mm am 7., 11,3 mm am 14. und 13,1 mm am 30. Tag p.p. LABHSETWAR, COLLINS, TYLER & CASIDA (1964) fanden reife Follikel am 21. Tag p.p. . Zur ersten Follikelanbildung kommt es bereits am 3. bis 5. Tag p.p. (RÜSSE 1968).

Von ersten Ovulationen am 10. bis 15. Tag p.p. berichten MORROW et al. (1966). Dabei hat es sich vorwiegend um stille Brunsten gehandelt. WAGNER & HANSEL (1969) fanden erste Ovulationen

am 14. Tag p.p., MENGE, MARES, TYLER & CASIDA (1962) am 19. Tag p.p. . Bei den Kühen, bei denen man die Kälber saugen ließ, wurde die erste Ovulation im Durchschnitt erst am 52. Tag p.p. festgestellt, während die Kühe, die gemolken wurden, bereits am 45. Tag p.p. und die nicht laktierenden im Durchschnitt sogar schon am 24. Tag p.p. ovulierten. Daß zwischen Milchrassen und Fleischrassen ein Unterschied besteht, berichtet BAKER (1969). Bei den Fleischrassen fanden die ersten Ovulationen erst zwischen dem 36. und 71. Tag p.p. statt.

Über die erste Brunst nach der Geburt weichen die Aussagen der Autoren etwas voneinander ab. RÜSSE (1968) berichtet von der ersten Brunst bei normaler Uterusinvolution nach durchschnittlich 47,9 Tagen p.p., bei verzögerter Uterusinvolution nach 62,7 Tagen p.p. . MORROW et al. (1969 a) geben 32 bis 76 Tage p.p. als Intervall für die erste Brunst an. CLAPP (1937) gibt 46 Tage und WILTBANK & COOK (1958) sogar 54 Tage als Zeitraum zwischen Geburt und Östrus bei gemolkenen Kühen an. Daß bei den Tieren, bei denen man die Kälber saugen ließ, die erste Brunst später eintritt, darüber sind sich die Autoren einig. WAGNER & HANSEL (1969) berichten von mehr als 30 Tagen im Gegensatz zu 14 Tagen bei gemolkenen Kühen, WILTBANK & COOK (1958) von 84 Tagen gegenüber 54 Tagen nach dem Kalben. Nach WAGNER & OXENREIDER (1971) verlängert sich auch durch viermal tägliches Melken der Abstand der ersten Brunst von der Geburt auf 69 Tage. Bei den Fleischrassen verlängerte das Säugen der Kälber das Intervall bis zur ersten Brunst auf 90 bis 140 Tage (BAKER 1969). Wenn man die Kälber am

10. - 14. Tag p.p. von der Mutter entfernte,
kam es bereits nach 50 Tagen zur ersten Brunst,
beim Entwöhnen am 3. Tag p.p. trat die erste
Brunst schon nach 35 Tagen auf.

3. Methodischer Teil

3.1. Tiermaterial

Die Tierversuche wurden auf der Versuchsstation Veitshof der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft Weißenstephan der Technischen Universität München durchgeführt. Für die Versuche standen insgesamt 10 Kühe zur Verfügung. Bezeichnung, Alter und Rasse der für die Versuche verwendeten Tiere sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1

Tiermaterial

Tier	Alter (Jahre)	Rasse	Milchleistung in kg (vorangegangene Laktation)
Kuh Kalega	5	Braunvieh	3540
Karo	5	"	3152
Kalipri	6	"	4780
Kaido	10	"	5350
Nydo	6	"	4772
Kakro	4	"	3560
Kakwie	9	"	5603
Kalidel	9	"	5283
Kafeil	6	Kreuzung Fleckvieh / Braunvieh	3580
Rojo	5	Braunvieh	3516

Die Kühe wurden im Offenstall gehalten, mit Weidegang im Sommer; im Winter bestand die Fütterung aus Heu, Maissilage und Kraftfutter.

Die Kälber wurden unmittelbar nach der Geburt von der Mutter entfernt und in einem separaten Kälberstall aufgezogen.

3.2. Probenentnahme

3.2.1. Milchproben

Die Milchproben wurden jeweils um 8⁰⁰ morgens und jeweils aus dem gleichen Euterviertel entnommen. Der Gesundheitszustand der Euter wurde mit Hilfe des Schalmtests laufend kontrolliert. Die Milchprobenentnahme erfolgte nach dem Schema, das in Tabelle 2 wiedergegeben ist.

Tabelle 2

Schema der Milchprobenentnahme

Zeitraum	Melken	Tag der Probennahme
Ende der Laktation ⁺	2 x täglich	80., 50. Tag
Trockenstellen ⁺	1 x täglich	20., 16. Tag
	alle 2-3 Tage	12., 8., 4. Tag
Trockenstehen	kein Melken	0., 4., 8., 18., 28. Tag
Beginn der Laktation (post partum)	2 x täglich	0., 1., 2., 3., 4., 6., 9. Tag bzw. 1., 3., 8., 12. Tag
vor dem Trockenstehen		

Die Milchproben wurden durch Handmelken genommen, vor Licht geschützt und kühl aufbewahrt. Die Bestimmung der sauren Phosphatase wurde am Tag der Probenentnahme durchgeführt, die Probe für die Bestimmung des Kathepsin D wurde bis zur Aufarbeitung bei -18° C eingefroren.

Während des Trockenstehens wurde zuerst der im Strichkanal befindliche, wachsartige Pfropf abgemolken, bevor die eigentliche Sekretentnahme erfolgte.

3.2.2. Blutproben

Die Blutproben wurden aus der Vena jugularis entnommen; bei weniger frequenten Entnahmen durch Punktion mit kleinen Kanülen und bei häufigen Entnahmen mit Hilfe eines Plastik-katheters. Nach jeder Entnahme wurde eine Heparinlösung in den Katheter gespritzt und dieser mit einem Gummistopfen verschlossen. Die Blutproben wurden in Zentrifugengläsern, die 0,1 ml Liquemin (Heparinpräparat der Fa. Hoffmann - La Roche) enthielten, gesammelt, gekühlt, abzentrifugiert und bei -18° C bis zum Test aufbewahrt.

3.3. Rektale Untersuchung

Durch rektale Palpation wurden die Veränderungen am Uterus festgestellt. Die Untersu-

chungen erfolgten am 5., 10., 20., 30 usw.
Tag p.p.

Bei den Rindern in der Post-partum-Phase gal-
ten als Kriterien für eine abgeschlossene Ute-
rusinvolution: Rückkehr des Uterus in seine
normale Lage im Becken und annähernd gleiche
Größe der Uterushörner, normale Konsistenz
und normaler Tonus des Uterus (nach MORROW
et al. 1969).

3.4. Bestimmung von Enzymaktivitäten im Eutersekret

3.4.1. Bestimmung der sauren Phosphatase im Eutersekret (Methode nach RUFFER 1973)

Prinzip: Die saure Phosphatase setzt aus dem Sub-
strat (p-Nitrophenylphosphat) p-Nitrophenol frei.
Der stabile Farbkomplex p-Nitrophenol ist das Maß
für die Enzymaktivität und wird photometrisch be-
stimmt.

A) Lösungen:

Puffer: 50 mM Citratpuffer pH 3,95

Substrat: 0,25 M p-Nitrophenylphosphat MG=371,15

NaOH 0,3 N

B) Aufarbeitung des Eutersekretes:

Die Milch wird 10 min. bei 7500 g = 8000 Upm
zentrifugiert, das Fett mit dem Spatel abge-
nommen, das Zentrifugenglas mit Aluminium-
folie umwickelt (lichtempfindlich!) und fil-
triert (Blaubandfilter Nr. 589³).

C) Versuchsansatz 3-fach, je 3 Haupt- und Blindwerte:

	H	B
Puffer	2,0 ml	2,0 ml
Milch	0,1	-
Substrat	0,1	0,1
genau 1 Stunde inkubieren bei + 25° C		
NaOH	1,0	1,0
Milch	-	0,1

Durch Zugabe der NaOH wird die Reaktion gestoppt. Der aus dem Substrat entstandene Farbkomplex p-Nitrophenol ist stabil.

D) Messung:

Am Spektrophotometer bei 405 nm in 1-cm-Küvetten.

Messung erfolgt jeweils Hauptwert gegen Blindwert.

E) Berechnung:

$$\frac{\Delta E \times 1000 \times V_a}{60 \times \epsilon \times d \times V_b} = \text{Aktivitätseinheiten / ml}$$

ΔE = Extinktionsdifferenz zwischen Haupt- und Blindwert

V_a = Ansatz-Volumen

V_b = Volumen der Milchprobe

ϵ = Extinktionskoeffizient p-Nitrophenol

d = Schichtdicke

60 = Inkubationszeit

$$\frac{\Delta E \times 1000 \times 3,2}{60 \times 18,5 \times 1,0 \times 0,1} = \text{Milli-Units saure Phosphatase / ml}$$

3.4.2. Bestimmung des Kathepsin D im Eutersekret
(Methode nach U. HAGEN)

Prinzip: Kathepsin D setzt aus dem Substrat (Hämoglobin-Lösung) Tyrosin frei, dessen Konzentration nach FOLIN und CIOCALTEU bestimmt wird. Die Menge an freigesetzten Tyrosin ist das Maß für die Enzymaktivität und wird photometrisch bestimmt.

A) Lösungen:

Puffer: 0,5 M Acetatpuffer pH 3,6
Substrat: 5 %ige Hämoglobin-Lösung
(Merck Art. 4300)
Trichloressigsäure 10 %ig

B) Aufarbeitung des Eutersekretes:

Die Milch wird 10 min. bei 4000 Upm zentrifugiert, das Fett mit dem Spatel abgenommen und filtriert (Selecta-Falten-Filter 585 1/2).

C) Versuchsansatz:

2,0 ml Acetatpuffer
1,4 ml H₂O
0,1 ml Eutersekret bzw. Verdünnung
0,5 ml Hämoglobin-Lösung

Die Proben werden im Eisbad pipettiert. Der Versuchsansatz wird mit dem Vortex-Mixer gemischt und halbiert. Eine Probe wird sofort, die andere erst nach 40 min. Proteolyse bei + 44° C mit 1,0 ml Trichloressigsäure gefällt, abzentrifugiert (10 min. 4000 Upm) und in der überstehenden Flüssigkeit die Tyrosin-Konzentration mit dem Phenolreagens nach FOLIN und CIOCALTEU bestimmt. Die bei der Proteolyse freigesetzte Menge an Tyrosin ist das Maß für Fermentaktivität.

D) Tyrosin-Bestimmung mit dem Phenolreagens
nach FOLIN und CIOCALTEU:

Reagens A: 2 % Na_2CO_3 in 0,1 N NaOH

Reagens B: 0,5 % $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ in 1 % Na-
oder K-Tartrat

Reagens C: 50 ml Reagens A + 1 ml Reagens B.
(nur kurze Zeit haltbar)

FOLIN Reagens (Merck Art. 9001): soweit ver-
dünnen, daß 1 N an Säure

Ansatz (doppelt):

0,4 ml der überstehenden Flüssigkeit, dazu
2,0 ml Reagens C, gut durchschütteln, genau
10 min. stehen lassen, dazu

0,2 ml FOLIN-Reagens, schütteln, 30 min.
stehen lassen

E) Messung:

Am Spektrophometer bei 750 nm in 1-cm-Kü-
vetten gegen den FOLIN-Blindwert (statt
0,4 ml der überstehenden Flüssigkeit
0,4 ml H_2O).

Tyrosin-Eichkurve

Stammlösung: 10 mg Tyrosin ad 50 ml H_2O

Da schlecht löslich, werden einige Tropfen
6 N HCl zugesetzt.

Zur Eichkurve verwendete Lösung: 1 mg/25 ml H_2O

3.4.3. Bestimmung der β -Glucuronidase im Eutersekret (Methode nach DORUK 1972)

Prinzip der ausgewählten Bestimmungsmethode:
Das enzymatisch freigesetzte Phenolphthalein liegt in der zu testenden Reaktionslösung bzw. Milch als Lacton vor, in dem der unpolare Rest überwiegt. Aus diesem Milieu kann es leicht mit einem organischen Lösungsmittel, wie z. B. Essigsäure-n-Butylester, extrahiert werden. Für die colorimetrische quantitative Bestimmung wird die das farblose Phenolphthalein enthaltende Essigsäure-n-Butylesterphase mit einem alkalischen Glycin-Puffer geschüttelt. Hierbei wird der Lactonring des Farbstoffes geöffnet, und aus der intermediär entstehenden Carbinolbase Wasser abgespalten und ein mesomeres, polare Gruppen enthaltendes Bindungssystem des rot gefärbten Phenolphthaleins gebildet, das in die wässrige alkalische Phase übergeht, in der der Gehalt des Phenolphthaleins bei einem bestimmten pH gemessen wird.

Reagentien:

Reagens 1

0,01 m-Phenolphthalein- β -D-Glucuronid (Calbiochem. 5167)

Reagens 2

m-Acetatpuffer (pH 5,0)

Reagens 3

Essigsäure-n-Butylester Schuchard (ESO 36)

Reagens 4

Alkalische-m-Glycinlösung (pH 12,4)

Reagens 5

n-NaOH-Lösung

Reagens 6

Alkalische-m-Glycinlösung (pH 11)

Reagens 7

Phenolphthaleinstandardlösung:

100 mg Phenolphthalein (Merck 7230) werden in absoluter Äthanollösung (Merck 970) gelöst und auf 100 ml aufgefüllt; 3 ml dieser Lösung werden mit absolutem Äthanol (Merck 970) auf 100 ml gebracht.

Arbeitsvorschrift

Die Bestimmung der β -Glucuronidaseaktivität umfaßt 5 Arbeitsschritte:

1. Enzymatische Umsetzung in Acetatpuffer bei 38° C
2. Extraktion des Reaktionsproduktes mit Essigsäure-n-Butylester
3. Extraktion des Phenolphthaleins aus dem Ester mit alkalischer Glycinlösung
4. Einstellen des pH-Wertes der phenolphthaleinhaltigen alkalischen Glycinlösung auf pH 11 sowie auffüllen auf 10 ml
5. Filtrieren dieser Lösung, deren Extinktion gemessen wird.

Die Bestimmung der β -Glucuronidase wurde nur bei einem Tier durchgeführt (siehe Seite 33).

3.5. Bestimmung von Prolaktin

Die Bestimmung von Prolaktin erfolgte radioimmunologisch nach dem von SCHAMS & KARG (1969) beschriebenen Verfahren. Das verwendete Antiserum ist hochspezifisch und zeigt keine Kreuzreaktion mit Wachstumshormon, Luteinisierungshormon und Thyreotropen Hormon vom Rind, Follikelreifungshormon vom Schaf, synthetischem Adrenocorticotropen Hormon und Ocytocin. Als Standard-Präparation wurde das vom National Institute of Health zur Verfügung gestellte Präparat NIH-P-B₂ (19,9IU/mg) verwendet. Für die Markierung mit Jod 125, die nach der von GREENWOOD, HUNTER & GLOVER (1963) beschriebenen Methode mit Chloramin T erfolgte, wurde ein besonders hochgereinigtes Prolaktinpräparat benutzt. Die Trennung zwischen freiem und gebundenem Prolaktin erfolgte mit Hilfe der Doppelantikörpermethode (SCHAMS, KARG 1969).

3.6. Bestimmung von LH

Das LH wurde im Plasma mit Hilfe einer radioimmunologischen Methode nach dem von SCHAMS & KARG (1969) beschriebenen Arbeitsverfahren bestimmt. Die Trennung zwischen freiem und gebundenem markierten LH erfolgte mit Hilfe der Doppelantikörpermethode und anschließender Zentrifugation .

3.7. Bestimmung von Progesteron

Die Progesteronbestimmungen wurden radioimmunologisch im Steroidlabor des Instituts von Herrn Priv. Doz. Dr. HOFFMANN im Rahmen einer Teamarbeit durchgeführt. Über methodische Details siehe HOFFMANN (1972).

3.8. Messung der Milchmenge

Die Milchmenge wurde nach der jeweiligen Melkzeit mit Hilfe einer Balkenwaage gemessen.

4. Eigene Versuche

4.1. Vorversuche zur Enzymbestimmung

4.1.1. Empfindlichkeit der Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D gegenüber äußeren Einflüssen

Saure Phosphatase:

Die Proben mußten vor Licht geschützt und kühl aufbewahrt werden. Ein Einfrieren der Milchproben bis 30 Std. bei -18° C hat den Phosphatasegehalt nicht negativ beeinflußt.

Beim Zentrifugieren der Milchproben mußten 8000 Upm (= 7500 g) eingehalten werden. Bei niedrigeren Geschwindigkeiten kam es zu einer Trübung der Meßlösung, bei Geschwindigkeiten über 8000 Upm zu einer Aktivitätsminderung des Enzyms.

Kathepsin D:

Die Proben für die Kathepsinbestimmung konnten ohne Schaden über mehrere Wochen bei -18° C aufbewahrt werden. Gegen Wärme war das Enzym sehr empfindlich, deshalb wurden die Proben auch im Eisbad pipettiert.

4.1.2. Verdünnungsproben

Waren die Enzymaktivitäten außerhalb des Meßbereiches, so wurden Verdünnungen angelegt. Aufgrund mehrerer Versuche wurde als Verdünnungsmittel schließlich Aqua bidest. genommen. Das

Eutersekret wurde mit dem Aqua bidest. mit Hilfe eines Vortex-Mixers gleichmäßig gemischt und, wie oben angeführt, weiter aufgearbeitet.

4.1.3. Die Enzymaktivitäten im Sekret der vier Euterviiertel

In der Enzymaktivität war während der normalen Laktation zwischen den vier Eutervierteln kein signifikanter Unterschied festzustellen. Dieser Versuch ist in der Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3

Die Enzymaktivitäten im Sekret der vier Euterviiertel einer Kuh während der Laktation

	vorne links	vorne rechts	hinten links	hinten rechts
Kathepsin D (ug Tyrosin)	0,4	0,4	0,5	0,6
saure Phosphatase (mU/ml)	9,2	9,3	9,3	9,2

4.1.4. Die Enzymaktivitäten im Anfangs-, Mittel- und Endgemelk.

Zwischen Anfangs-, Mittel- und Endgemelk waren bezüglich der Enzymaktivität der beiden lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D keine deutlichen Unterschiede festzustellen (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4

Die Enzymaktivitäten im Anfangs-, Mittel- und Endgemelk bei einer Kuh.

	Anfangs- gemelk	Mittel- gemelk	Endge- melk
Kathepsin D (ug Tyrosin)	0,5	0,5	0,6
saure Phospha- tase (mU/ml)	7,2	7,2	7,3

Aus technischen Gründen wurden die Milchproben immer etwa eine halbe Stunde nach dem Melken entnommen.

4.2. Die Aktivität der lysosomalen Enzyme im Eutersekret vom Laktationsende bis zum 12. Tag p.p. bei unbehandelten Tieren

Kuh "Kalega", 5-jährig

Beginn des Trockenstellens am 233. Tag der Trächtigkeit
Geburt am 288. Tag der Trächtigkeit
In der Zeit vom 4.1.73 bis 18.4.73 wurden insgesamt 16 Milchproben entnommen.

Die Bestimmung der β -Glucuronidase wurde nur bei der Kuh "Kalega" durchgeführt, da später das zur Bestimmung notwendige Substrat (0,01 m-Phenolphthalein- β -D-Glucuronid) nicht mehr im Handel erhältlich war.

Der Aktivitätsverlauf der drei lysosomalen Enzyme ist aus der Abb. 1 ersichtlich. Bei der β -Glucuronidase kommt es bereits vor dem Trockenstellen zu einem geringen Anstieg, der am Tag 4 nach dem Trockenstehen sein Maximum erreicht. Die saure Phosphatase und das Kathepsin D erreichen ebenfalls nach einem kontinuierlichen Ansteigen am Tag 4 nach dem Trockenstellen ihr Maximum. Danach kommt es, abgesehen von einem erneuten Anstieg bei der β -Glucuronidase zu einem Abfallen bis zum Tag der Geburt hin. Die Ausgangswerte vor dem Trockenstellen werden am 3. Tag nach der Geburt erreicht.

Die Milchbeschaffenheit änderte sich vom Tag 4 vor dem Trockenstehen von weiß nach gelblich, später wässrig braun bis bernsteinfarben und zähpappig am Tag 18 nach dem Trockenstehen. Nach der Geburt hatte das Sekret bis zum 8. Tag Kolostralmilchcharakter.

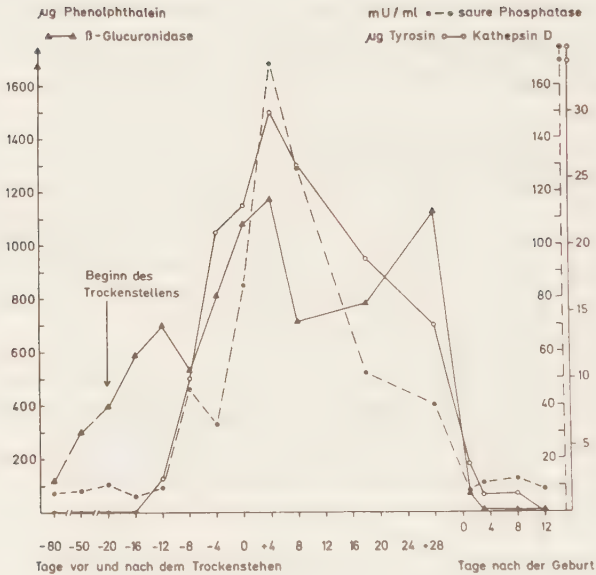


Abb. 1 Kuh "Kalega": Aktivitätsänderung der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase, Kathepsin D und β-Glucuronidase im Eutersekret vom Beginn des Trockenstellens bis nach der Geburt

Kuh "Karo", 5-jährig

Beginn des Trockenstellens am 235. Tag der Trächtigkeit
Geburt am 287. Tag der Trächtigkeit
In der Zeit vom 3.2.73 bis 2.5.73 wurden insgesamt 16 Milchproben entnommen.

Bei der sauren Phosphatase kommt es ebenso wie beim Kathepsin D (siehe Abb. 2) vom Tag 4 vor

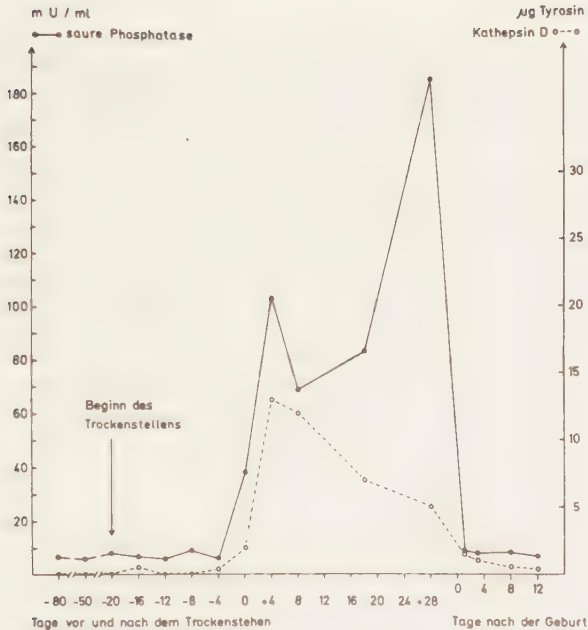


Abb. 2 Kuh "Karo": Aktivitätsänderung der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D im Eutersekret vom Beginn des Trockenstellens bis nach der Geburt

dem Trockenstehen zu einem steilen Ansteigen. Während das Kathepsin D vom Tag 4 nach dem Trockenstehen allmählich bis zur Geburt hin abfällt, kommt es bei der sauren Phosphatase zu einem erneuten Ansteigen auf einen Gipfelwert von 185 mU/ml. Bereits am 1. Tag nach der Geburt sind die Basiswerte wie vor dem Trockenstellen erreicht.

Die Milchfarbe und -beschaffenheit zeigte keinerlei Besonderheit. Die Milch war am 8. Tag nach der Geburt wieder normal.

Kuh "Kalipri", 6-jährig

Beginn des Trockenstellens am 235. Tag der Trächtigkeit
Geburt am 287. Tag der Trächtigkeit
In der Zeit vom 26.2.73 bis 21.6.73 wurden insgesamt 19 Milchproben entnommen.

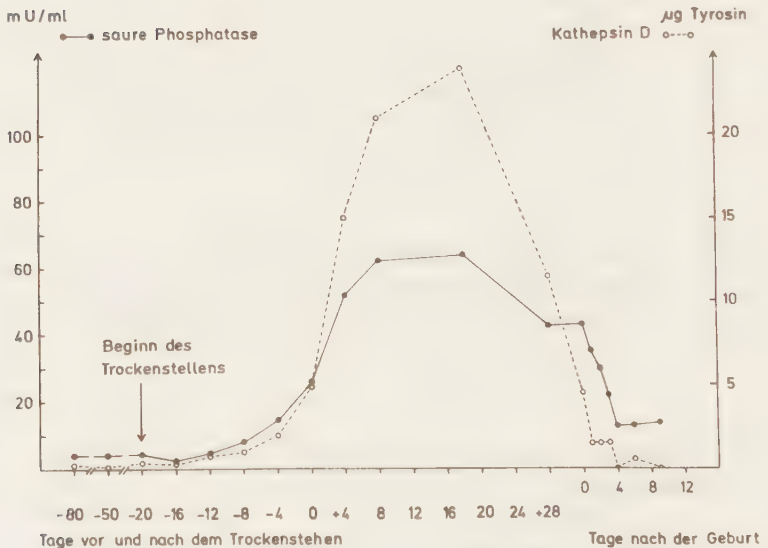


Abb. 3 Kuh "Kalipri": Aktivitätsänderung der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D im Eutersekret vom Beginn des Trockenstellens bis nach der Geburt

Der Aktivitätsverlauf der sauren Phosphatase ist aus der Abb. 3 ersichtlich. Mit dem 16. Tag vor dem Trockenstehen kommt es zu einem allmählichen Ansteigen bis zum Tag 0, zu einem etwas steileren Anstieg bis zum Tag 18, dann gegen Ende des Trockenstehens zu einem allmählichen Abfallen, das über die Geburt hinaus anhält und sich auf Werte einpendelt, die etwas über den Ausgangswerten vor dem Trockenstehen liegen.

Gegenüber der sauren Phosphatase kommt es beim Kathepsin D zu einem steileren Ansteigen vom Tag 0 an und zu einem rascheren Abfallen vom Tag 18 an. Die Ausgangswerte vor dem Trockenstehen werden am 4. Tag p.p. erreicht. Beim Vergleich der beiden Kurven fällt auf, daß bei beiden Enzymen das Maximum der Aktivität auf den Tag 18 fällt.

Die Milchbeschaffenheit änderte sich ab dem Tag 4 nach dem Trockenstehen von weiß zu gelblich und wässrig braun und pappig bis bernsteinfarben und zähpappig am Tag 28. Die Milch nach der Geburt hatte bis zum 4. Tag p.p. Kolostralmilchcharakter und war ab dem 6. Tag p.p. normal.

Kuh "Kaido", 10-jährig

Beginn des Trockenstellens am 232. Tag der Trächtigkeit
Geburt am 286. Tag der Trächtigkeit
In der Zeit vom 26.2.73 bis 28.6.73 wurden insgesamt 19 Milchproben entnommen.

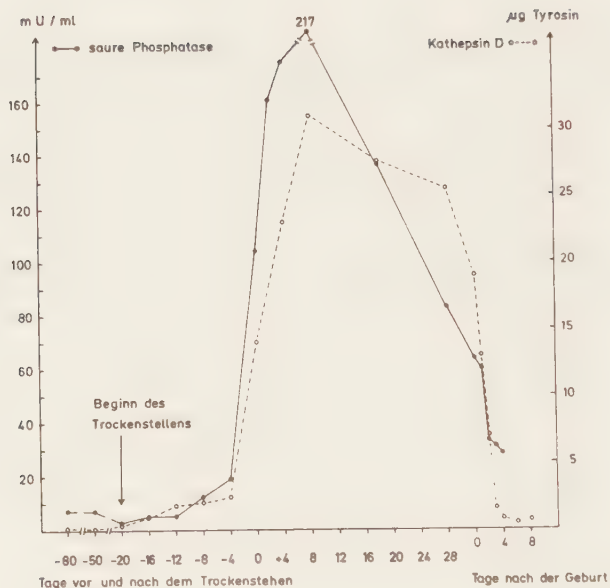


Abb. 4 Kuh "Kaido": Aktivitätsänderung der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D im Eutersekret vom Beginn des Trockenstellens bis nach der Geburt

Die Aktivität der sauren Phosphatase (siehe Abb. 4) steigt vom Tag 4 vor dem Trockenstehen steil an und erreicht am Tag 8 des Trockenstehens mit einer um etwa das 30 fache höheren Aktivität als die Ausgangswerte ihr Maximum. Vom Tag 8 an ein steiler Abfall über die Geburt hinaus bis zum 2. Tag p.p. Die Ausgangswerte wie vor dem Trockenstellen werden nicht ganz erreicht.

Beim Kathepsin D kommt es ebenfalls zu einem raschen Anstieg bis auf 31,0 µg Tyrosin / ml und zu einem ebenso steilen Abfall. Die Ausgangswerte werden am 4. Tag p.p. annähernd erreicht. Bei beiden Enzymen liegt das Maximum am Tag 8 des Trockenstehens.

Das Eutersekret war am Tag 4 des Trockenstehens gelblich und wässrig, am Tag 8 bereits braun und zähpappig und blieb so bis zur Geburt. Der Kolostralmilchcharakter blieb bis zum 6. Tag p.p. erhalten; ab dem 7. Tag p.p. war die Farbe und Konsistenz der Milch normal.

Die Kuh "Kaido" hatte eine übergangene Geburt. Das Kalb war bereits abgestorben und emphysematös. Die Kuh wurde antibiotisch versorgt.

4.3. Die Aktivität der lysosomalen Enzyme im Eutersekret vom Laktationsende bis zum 9. Tag p.p. bei mit CB-154 behandelten Tieren.

Die folgenden fünf Tiere wurden mit dem synthetischen Ergotalkaloid 2-Br- α -Ergokryptin-Methansulfonat (CB-154) behandelt. Die Substanz wurde in 3,0 ml 40 %igem Alkohol gelöst, mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und jeweils intramuskulär appliziert. Die Behandlungstage sind beim jeweiligen Tier aufgeführt.

Kuh "Nydo", 6-jährig

Beginn des Trockenstellens am 237. Tag der Trächtigkeit
Geburt am 287. Tag der Trächtigkeit

In der Zeit vom 16.4.73 bis 12.8.73 wurden insgesamt 19 Milchproben entnommen.

Behandlung mit je 150 mg CB-154 am 273., 274., 277., 278. und 281 Tag der Trächtigkeit.

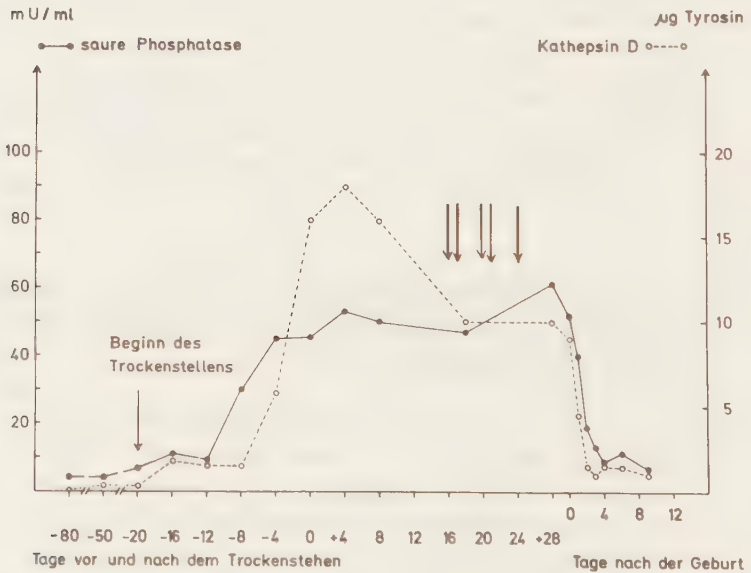


Abb. 5 Kuh "Nydo": Aktivitätsänderung der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D im Eutersekret vom Beginn des Trockenstellens bis nach der Geburt

↓ = jeweilige Injektion von 150 mg CB-154 i.m.

Die Aktivität der sauren Phosphatase (siehe Abb. 5) nimmt allmählich zu und hat am Tag 28 ihr Maximum erreicht.

Beim Kathepsin D kommt es zu einem etwas steileren Anstieg. Bei beiden Enzymen fällt die Kurve nach der Geburt steil ab. Das Eutersekret zeigte keine Abweichungen von der Norm.

Kuh "Kakro", 4-jährig

Beginn des Trockenstellens am 234. Tag der Trächtigkeit
Geburt am 291. Tag der Trächtigkeit
In der Zeit vom 16.4.73 bis 16.8.73 wurden insgesamt 19 Milchproben entnommen.

Behandlung mit je 150 mg CB-154 am 272., 273., 276., 277., 280., 289. und 291 Tag der Trächtigkeit.

Bei der Kuh "Kakro" (siehe Abb. 6) kommt es im Zuge des Trockenstellens zu einem allmählichen, im Laufe des Trockenstehens zu einem steileren Ansteigen der sauren Phosphatase bis auf ein Maximum von 126 mU/ml. Nach der Geburt fällt die Aktivität gleichmäßig ab. Die Aktivität des Kathepsin D zeigt einen steilen Anstieg bis auf 29,5 µg Tyrosin am Tag 4 des Trockenstehens; danach kommt es zu einem allmählichen, nach der Geburt zu einem rascheren Abfallen.

Die Milch war am Tag der Geburt kakaofarben, am 1. Tag p.p. gelblich, hatte also Kolostralmilchcharakter, am 2. Tag p.p. wurde sie wieder kakaofarben und blieb so bis zum 5. Tag p.p. . Ab dem 6. Tag p.p. war sie leicht rötlich und zeigte auch am 9. Tag p.p. noch eine "schmutzige" Verfärbung.

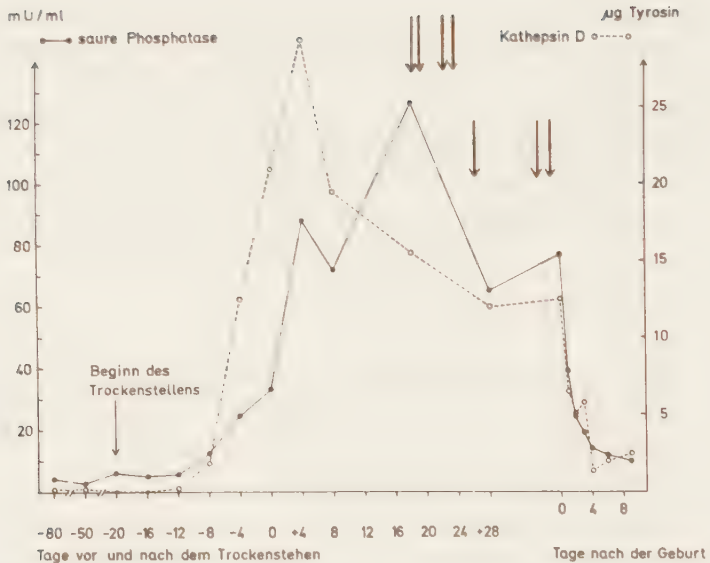


Abb. 6 Kuh "Kakro": Aktivitätsänderung der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D im Eutersekret vom Beginn des Trockenstellens bis nach der Geburt
 ↓ = jeweilige Injektion von 150 mg CB-154 i.m.

Kuh "Kakwie", 9-jährig

Beginn des Trockenstellens am 227. Tag der Trächtigkeit
 Geburt am 279. Tag der Trächtigkeit
 In der Zeit vom 16.4.73 bis 7.8.73 wurden insgesamt 19 Milchproben entnommen.

Behandlung mit je 150 mg CB-154 am 274., 275., 278. und 279. Tag der Trächtigkeit.

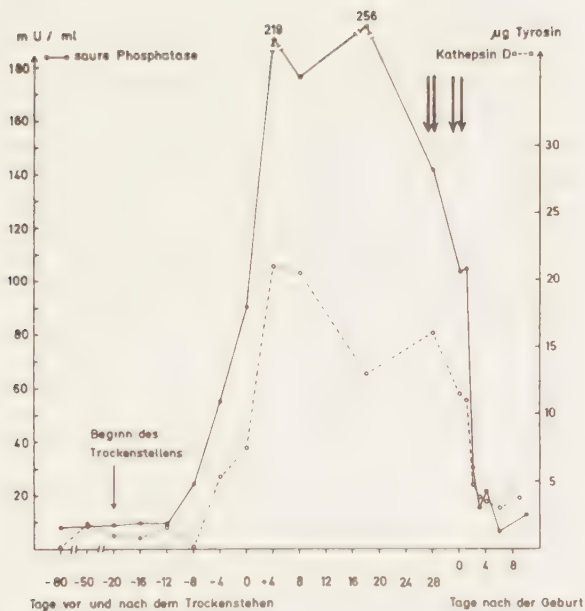


Abb. 7 Kuh "Kakwie": Aktivitätsänderung der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D im Eutersekret vom Beginn des Trockenstellens bis nach der Geburt
 ↓ = jeweilige Injektion von 150 mg CB-154 i.m.

Bei der Kuh "Kakwie" (siehe Abb. 7) sieht man, daß die Aktivität der sauren Phosphatase vom Tag 12 vor dem Trockenstehen an sehr steil ansteigt auf Werte, die um das 28-31-fache höher liegen als die Ausgangswerte. Zu einem Abfallen kommt es ab dem 18. Tag des Trockenstehens; nach der Geburt fällt die Aktivität steil ab. Beim Kathepsin D verläuft die Kurve ähnlich; allerdings fallen die Maxima bei den beiden Enzymen nicht auf den gleichen Tag.

Die Milchfarbe und -beschaffenheit zeigte keine Besonderheiten. Die Milch war am 7. Tag p.p. wieder normal.

Kuh "Kalidel", 9-jährig

Beginn des Trockenstellens am 230. Tag der Trächtigkeit
Geburt am 282. Tag der Trächtigkeit
In der Zeit vom 15.5.73 bis 11.9.73 wurden insgesamt 19 Milchproben entnommen.

Behandlung mit je 150 mg CB-154 am 278., 279., 282. und 283. Tag der Trächtigkeit.

Aus der Abb. 8 ist ersichtlich, daß es bei beiden Enzymen zu einem gleichzeitigen Anstieg bis zu einem Maximum am Tag 18 des Trockenstehens und von da an zu einem allmählichen Abfall bis zur Geburt kommt. Am 1. Tag p.p. steigen beide Enzyme nochmals leicht an und fallen dann wieder fast bis auf die Ausgangswerte ab.

Das Sekret zeigte während des Trockenstellens bzw. Trockenstehens keine Abweichungen von der während des Trockenstehens üblichen Farbe und Beschaffenheit (wie bei Kalipri und Kaido beschrieben!).

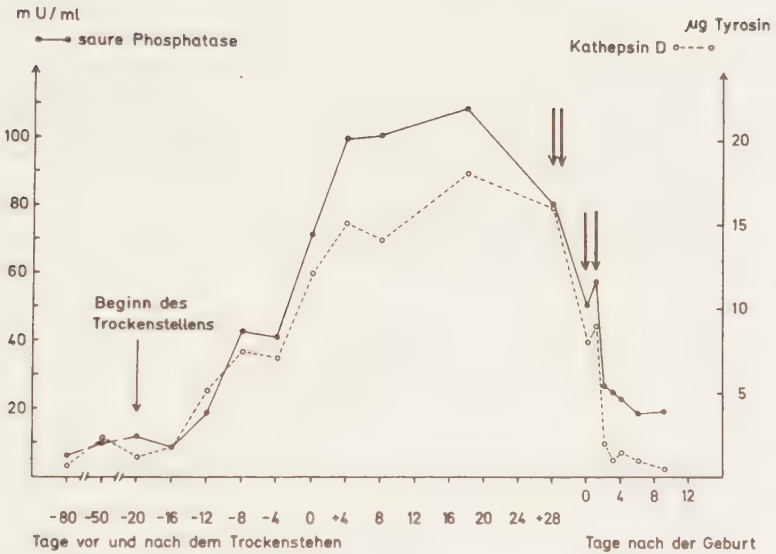


Abb. 8 Kuh "Kalidel": Aktivitätsänderung der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D im Eutersekret vom Beginn des Trockenstellens bis nach der Geburt.

↓ = jeweilige Injektion von 150 mg CB-154 i.m.

Nach der Geburt wies die Kolostralmilch bis zum 4. Tag p.p. geringe Blutbeimengung auf, ab dem 5. Tag p.p. war sie stark rot gefärbt und blieb so bis zum 11. Tag p.p. . Ab dem 12. Tag p.p. war die Milch normal.

Kuh "Kafeil", 6-jährig

Beginn des Trockenstellens am 230. Tag der Trächtigkeit
Geburt am 287. Tag der Trächtigkeit

In der Zeit vom 15.5.73 bis 26.9.73 wurden insgesamt 19 Milchproben entnommen.

Behandlung mit je 150 mg CB-154 am 274., 275., 278., 279., 282. und 285. Tag der Trächtigkeit.

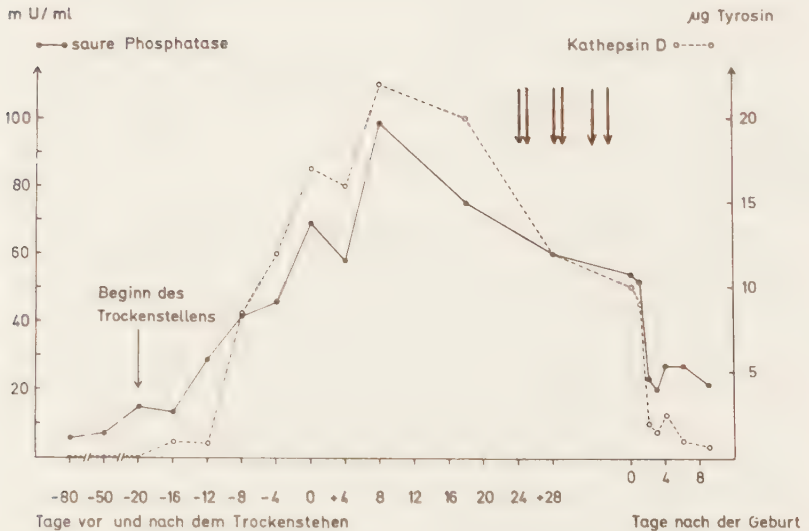


Abb. 9 Kuh "Kafeil": Aktivitätsänderung der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase und Kathepsin D im Eutersekret vom Beginn des Trockenstellens bis nach der Geburt
↓ = jeweilige Injektion von 150 mg CB-154 i.m.

Wie die Abb. 9 zeigt, steigt die Aktivität der sauren Phosphatase während des Trockenstellens allmählich bis auf 99 mU/ml am Tag 8 des Trockenstehens an. Danach kommt es wieder zu einem allmählichen Abfall. Nach der Geburt nimmt die Aktivität rasch ab. Beim Kathepsin D ist der Verlauf ähnlich. Auffallend ist die Kongruenz am Tag 0, 4 und 8 des Trockenstehens und nach der Geburt.

Während des Trockenstehens zeigte das Sekret keinerlei Besonderheiten. Das Kolostrum wies bis zum 4. Tag p.p. geringe Blutbeimengungen auf. Ab dem 10. Tag p.p. war die Milch normal.

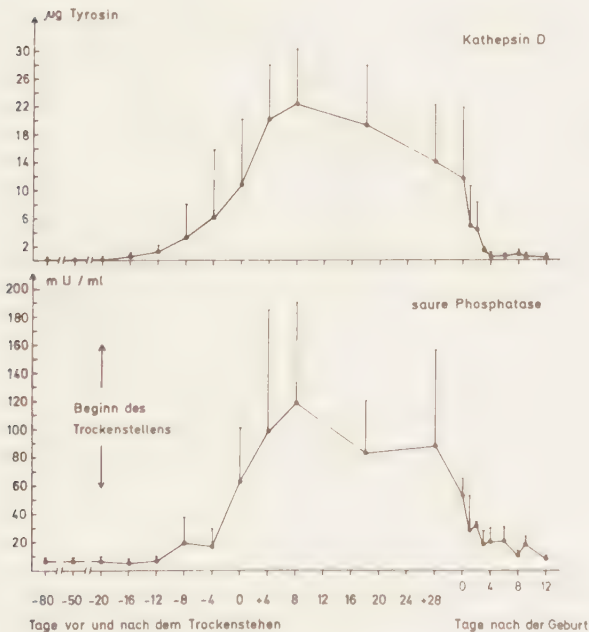


Abb. 10 Mittelwerte der Enzymaktivitäten mit Standardabweichungen im Eutersekret der 4 unbehandelten Tiere.

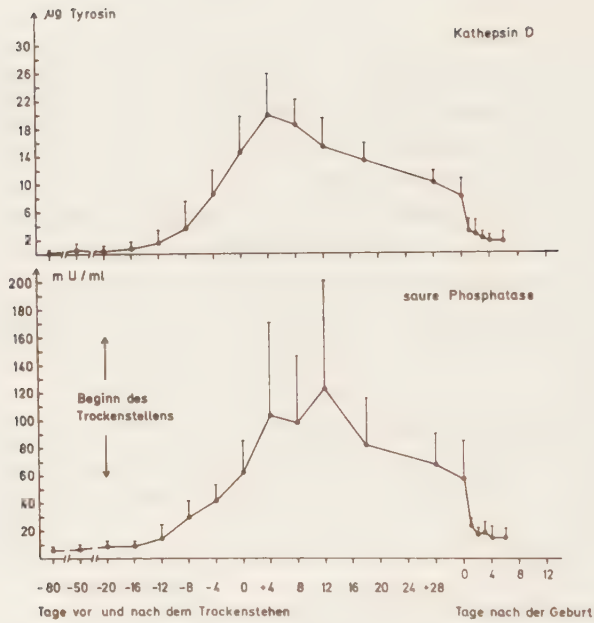


Abb. 11 Mittelwerte der Enzymaktivitäten mit Standardabweichungen im Eutersekret der 5 mit CB-154 behandelten Tiere

In den Abb.10 und 11 sind die Mittelwerte der Enzymaktivitäten der vier unbehandelten und der fünf mit CB-154 behandelten Tiere mit den Standardabweichungen zusammengefaßt.

4.4. Einfluß der Prolaktinhemmung auf die Komponente "X"

Die Komponente "X", an deren Aufklärung am Chemisch-Physikalischen Institut, Weißenstephan, gearbeitet wird, trat bei den untersuchten sieben Tieren unterschiedlich stark auf. Sie liegt bei der elektrophoretischen Auftrennung der Caseinfraction vor der γ -Caseinfraction und ist in normaler Milch oder Kolostralmilch nicht zu finden.

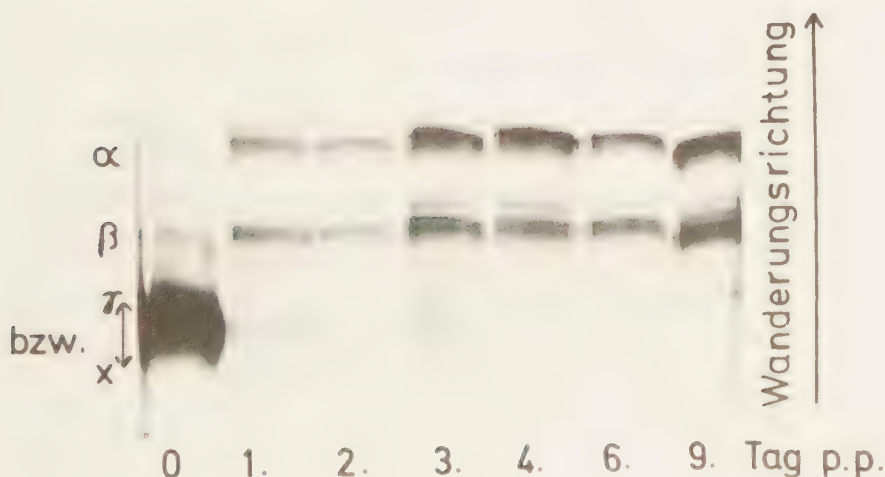


Abb. 12 Kuh "Kakwie": Elektrophorese der Caseinfraction der Gemelke vom Tag der Geburt und den Tagen 1, 2, 3, 4, 6 und 9 nach der Geburt nach der Behandlung mit CB-154
(Diese Abbildung wurde von Herrn Prof. Dr. Kirchmeier zur Verfügung gestellt.)

Am stärksten trat diese Komponente bei der Kuh "Kakwie" am Tag der Geburt auf (siehe Abb. 12). Die Milch ist am 6. Tag p.p. wieder normal in ihrer Beschaffenheit.

Bei den übrigen sechs Tieren trat diese Komponente ebenfalls unterschiedlich stark auf.

Bei der Kuh "Kalipri", bei der die Prolaktinsekretion nicht gehemmt war, ist die Komponente am Tag der Geburt schwach vorhanden und verschwindet am 6. Tag wieder.

Bei der Kuh "Kaido", bei der die Prolaktinsekretion ebenfalls nicht gehemmt war, ist die Komponente in 2 Fraktionen gespalten.

Bei der Kuh "Nydo" ist die Komponente 4 Tage lang gleich stark und verschwindet am 8. Tag p.p. .

Bei der Kuh "Kakro" ist die Komponente sehr schwach vorhanden. Die Fraktionen sind am 8. Tag normal.

Bei der Kuh "Kalidel" tritt sie erst am 1. Tag p.p. auf, verschwindet wieder, um am 5. Tag wieder aufzutreten. Am 9. Tag ist die Fraktion nicht mehr zu finden.

Bei der Kuh "Kafeil" ist die Komponente schwach vorhanden. Am 9. Tag ist die Milch normal.

4.5. Einfluß der Prolaktinhemmung auf die Laktogenese

Versuche über den Einfluß der Prolaktinhemmung auf die Laktogenese wurden mit den fünf oben aufgeführten, behandelten Tieren und einem weiteren Tier, der Kuh "Rojo", durchgeführt. Genaue Angaben über die Behandlung mit CB-154, den Prolaktinspiegel im Blut und die Milchleistung nach der Behandlung, sowie die Vorjahresmilchleistung finden sich in den Abbildungen 13 bis 18.

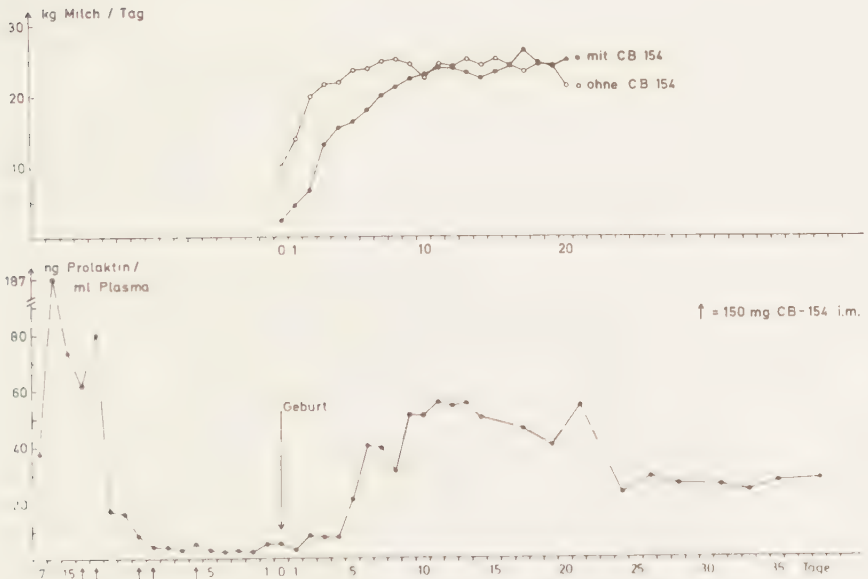


Abb. 13 Kuh "Nydo": Behandlung mit CB-154 (Juli, August); Auswirkung auf den Prolaktinspiegel im Blut und die Milchleistung
Abszisse: Tage vor und nach der Geburt

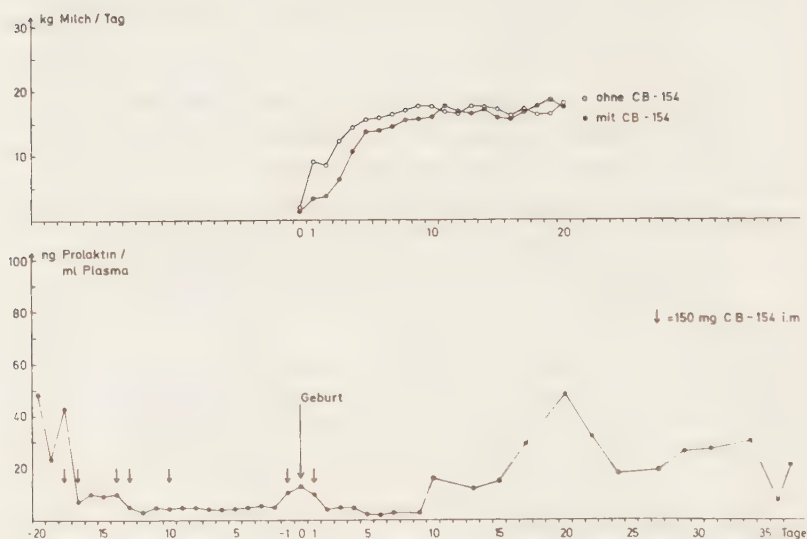


Abb. 14 Kuh "Kakro": Behandlung mit CB-154 (Juli, August); Auswirkung auf den Prolaktinspiegel im Blut und die Milchleistung
Abszisse: Tage vor und nach der Geburt

Blutproben wurden in sechsstündlichem Abstand, täglich oder dreimal pro Woche entnommen. Die Frequenz geht jeweils aus den Abbildungen hervor. Alle sechs Kühe hatten eine normale Geburt. Die Kuh "Kafeil" zeigte eine Retentio secundinarum. Ihr Kalb verendete 4 Tage nach der Geburt an einer Coli-Septikämie.

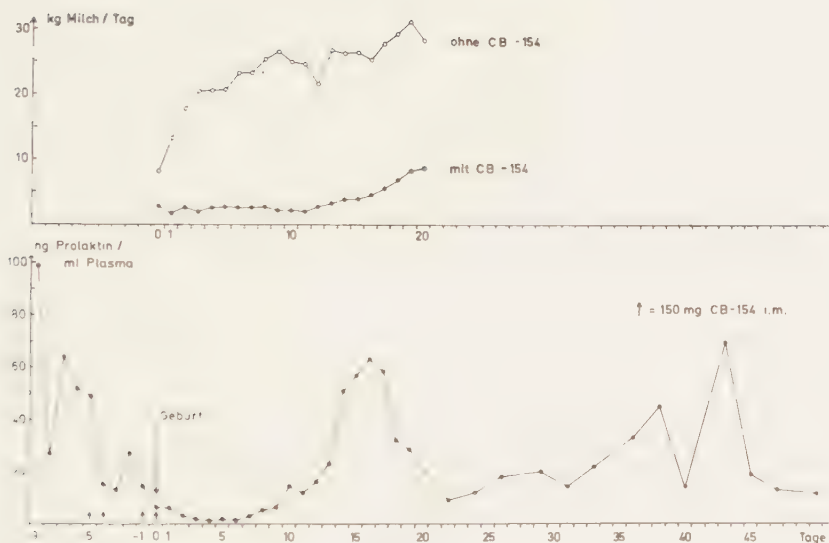


Abb. 15 Kuh "Kakwie": Behandlung mit CB-154 (Juli, August); Auswirkung auf den Prolaktinspiegel im Blut und die Milchleistung
Abszisse: Tage vor und nach der Geburt

Mit dem Einsetzen der CB-154-Behandlung sank der Prolaktinspiegel auf Werte unter 10 ng/ml Plasma ab und stieg erst ca. 10 Tage nach der letzten Injektion wieder an.

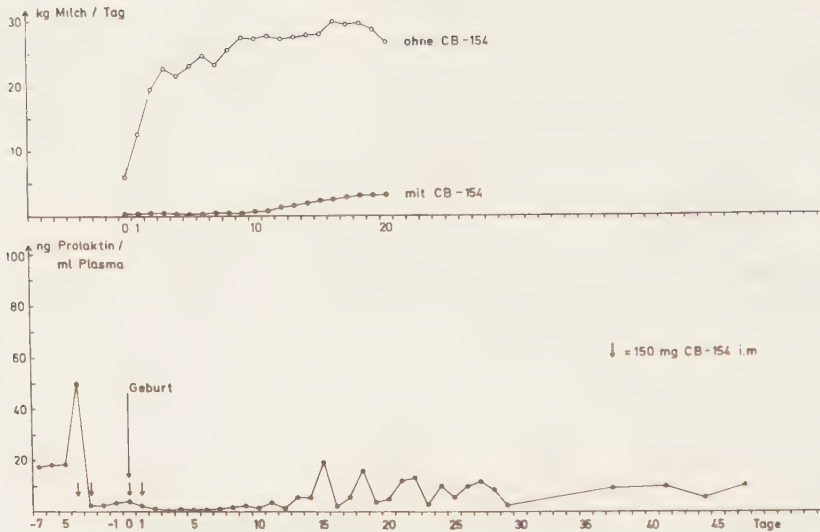


Abb. 16 Kuh "Kalidel": Behandlung mit CB-154 (August, September); Auswirkung auf den Prolaktinspiegel im Blut und die Milchleistung
Abszisse: Tage vor und nach der Geburt

Bei allen sechs Kühen hatte die Behandlung mit CB-154 einen negativen Effekt auf das Einsetzen der Laktation. Die sonst einige Tage vor der Geburt klinisch zu beobachtende Umfangsvermehrung des Euters und ein Prallwerden konnte bei den behandelten Tieren nicht festgestellt werden. Bei allen sechs Tieren blieb das Euter gegen Ende des Trockenstehens und einige Tage über die Geburt hinaus so klein und schlaff wie während

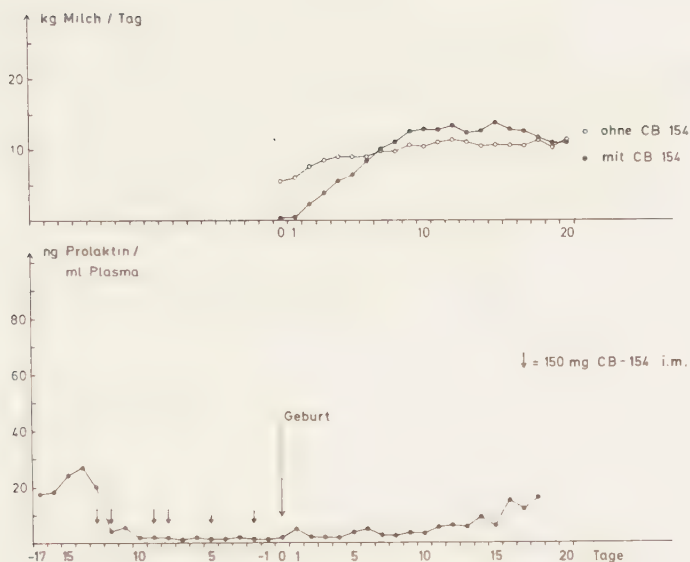


Abb. 17 Kuh "Kafeil": Behandlung mit CB-154 (September); Auswirkung auf den Prolaktinspiegel im Blut und die Milchleistung
 Abszisse: Tage vor und nach der Geburt

des Trockenstehens. Beim Vergleich der ersten 20 Gemelke vom Behandlungsjahr mit denen von 1972 (unbehandelt) ergibt sich eine Abnahme der Milchleistung

bei der Kuh	"Nydo"	(Abb. 13) um 16,3 %
bei der Kuh	"Kakro"	(Abb. 14) um 10,1 %
bei der Kuh	"Kakwie"	(Abb. 15) um 85,7 %
bei der Kuh	"Kalidel"	(Abb. 16) um 94,9 %
bei der Kuh	"Kafeil"	(Abb. 17) um 3,2 %
bei der Kuh	"Rojo"	(Abb. 18) um 46,5 %

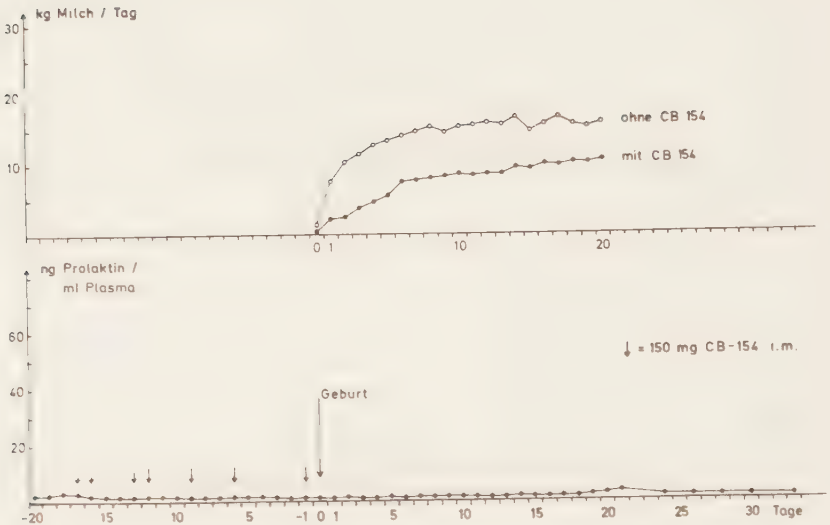


Abb. 18 Kuh "Rojo": Behandlung mit CB-154 (November);
Auswirkung auf den Prolaktinspiegel im Blut
und die Milchleistung
Abszisse: Tage vor und nach der Geburt

Die Farbe und Beschaffenheit der Kolostralmilch ist im Kapitel 4.2. beschrieben.

Die Milchleistung des Vorjahres wurde bei der Kuh "Nydo" nach 10, bei der Kuh "Kakro" nach 11 und bei der Kuh "Kafeil" nach 7 Tagen erreicht. Die Kühe "Kalidel", "Kakwie" und "Rojo" haben ihre Vorjahresleistungen nicht mehr erreicht.

4.6. Einfluß der Prolaktinhemmung auf das Ingangkommen der Ovarfunktion in der Post-partum-Phase

Die Ergebnisse der Plasmakonzentrationen für Progesteron und LH bei der Kuh "Nydo" sind in der Abb. 19 zusammengefaßt.

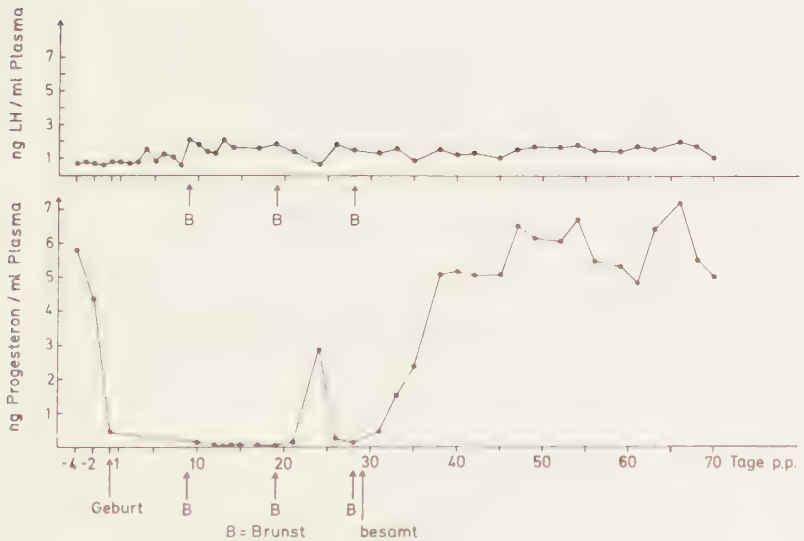


Abb. 19 Kuh "Nydo": LH- und Progesteronwerte im Blut während der Post-partum-Phase nach Behandlung mit CB-154 vor der Geburt

Die Progesteronwerte fallen zur Geburt hin steil ab und bleiben auf Werten unter 0,2 ng/ml bis zum 21. Tag p.p. . Danach kommt es zu einem kurzen Anstieg, zu einem steilen Abfallen und wieder zu einem allmählichen Ansteigen im Laufe der Frühgravidität bis auf Maximalwerte von 6,7 ng/ml.

Die LH-Werte bewegen sich während der ganzen Versuchsdauer zwischen 0,5 und 2,1 ng/ml. Gipfelwerte sind keine festzustellen.

Außere Brunsterscheinungen, wie Aufspringen auf andere Tiere, Unruhe, Auftreten von Brunstschleim und Ödematisierung der Vulva konnten am 9., 19. und 28. Tag p.p. beobachtet werden.

Durch rektale Palpation wurde der Abschluß der Uterusinvolution am 20. Tag p.p. und die Ovulation am 29. Tag p.p. festgestellt.

Die Besamung erfolgte am 29. Tag p.p. . Das Tier nahm auf die erste Besamung hin auf. Die Trächtigkeit wurde 12 Wochen nach der Besamung durch rektale Palpation zusätzlich abgesichert.

Die Ergebnisse der Plasmakonzentrationen für Progesteron und LH bei der Kuh "Kakro" sind in der Abb. 20 wiedergegeben.

Die Progesteronwerte fallen kurz vor der Geburt steil ab und bleiben bis zum 31. Tag p.p. auf minimalen Basiswerten. Am 31. Tag p.p. steigen die Werte auf 2,6 ng/ml an, um danach wieder steil abzufallen. Ab dem 41. Tag p.p. ein steiler Anstieg des Progesterons bis auf 6,7 ng/ml .

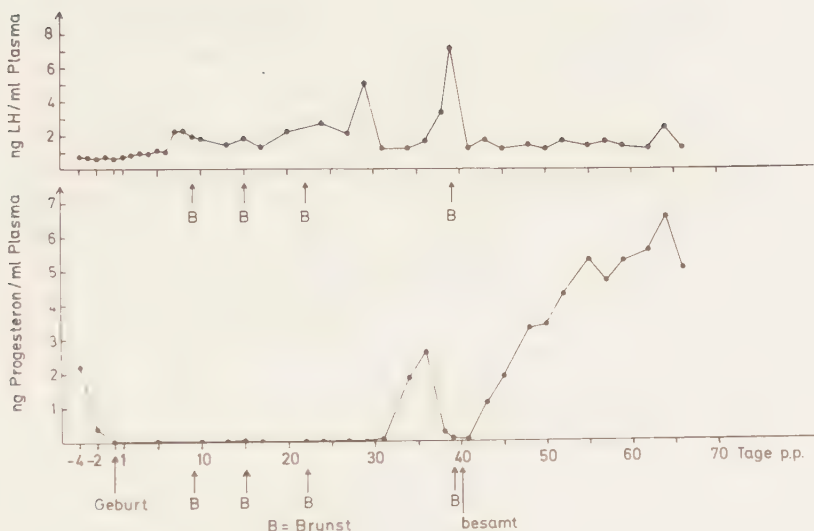


Abb. 20 Kuh "Kakro": LH- und Progesteronwerte im Blut während der Post-partum-Phase nach Behandlung mit CB-154 vor der Geburt

Die LH-Werte steigen ab dem 5. Tag p.p. auf Werte um 2 ng/ml an. Gipfelwerte sind am 29. und 39. Tag p.p. zu beobachten. Nach dem 39. Tag p.p. sind wieder niedrige Werte anzutreffen.

Äußere Brunsterscheinungen wurden am 9., 15., 22. und 39. Tag beobachtet.

Die rektale Palpation ergab: starke Uteruskontraktionen bei der 2., 3. und 4. Brunst. Ovulation bei der 4. Brunst. Die Uterusinvolution war am 20. Tag abgeschlossen.

Die Besamung erfolgte am 40. Tag. Es kam zu keinem Nachrindern. Die Trächtigkeit wurde 10 Wochen nach der Besamung durch rektale Palpation bestätigt.

Die Plasmakonzentrationen für Progesteron und LH bei der Kuh "Kakwie" sind aus der Abb. 21 ersichtlich.

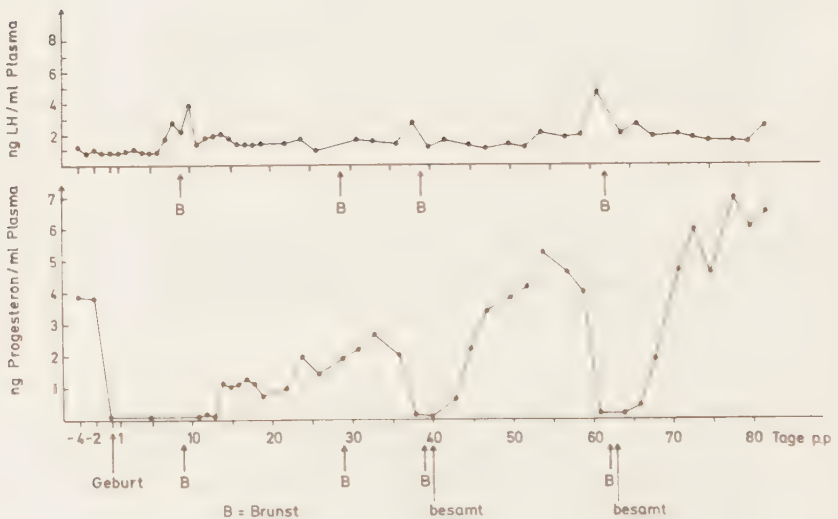


Abb. 21 Kuh "Kakwie": LH- und Progesteronwerte im Blut während der Post-partum-Phase nach Behandlung mit CB-154 vor der Geburt

Man sieht einen steilen Abfall des Progesterons zur Geburt hin, niedrige Basiswerte bis zum Tag 13, dann ein allmähliches Ansteigen bis zum Tag 33 . Zu einem erneuten Anstieg kam es vom Tag 40 und vom Tag 64 an. Es wurden dabei Werte von 5 bis 6,9 ng/ml erreicht.

Bei den LH-Werten kam es am Tag 10, 39 und 61 zu einem geringen Anstieg auf Werte um 3 ng/ml. Ansonsten zeigen die gemessenen LH-Werte ein etwa gleichbleibendes, niedriges Niveau.

Zu äußeren Brunsterscheinungen kam es am Tag 9, 29, 39 und 62.

Bei der rektalen Palpation wurde am Tag 9 am rechten Ovar ein weiches, fluktuierendes Bläschen festgestellt. Der Uterus war stark kontrahiert. Das rechte Horn hatte einen Durchmesser von etwa 20 cm. Die Uterusoberfläche war gewellt. Das weiche, fluktuierende, etwa walnußgroße Gebilde wurde am Tag 32 abgedrückt. Ovulationen wurden am Tag 41 und am Tag 63 durch rektale Palpation festgestellt. Die Uterusinvolution war am 25. Tag abgeschlossen.

Die erste Besamung erfolgte am Tag 40. Die Kuh "Kakwie" rinderte am Tag 62 nach. Die Nachbesamung erfolgte am Tag 63 . Auf diese zweite Besamung hin blieb das Tier trächtig. Die Trächtigkeit wurde durch rektale Palpation 12 Wochen nach der zweiten Besamung festgestellt.

Die Progesteron- und LH-Werte für die Kuh "Kalidel" sind in den Abb. 22 und 23 aufgeführt.

Wieder der charakteristische Abfall der Progesteronwerte um den Geburtszeitpunkt. Vom Tag 10 an ein Ansteigen auf ein Maximum von 6,25 ng/ml. Ein steiler Abfall vom Tag 24 an und beginnend mit dem Tag 29 wieder ein allmähliches Ansteigen.

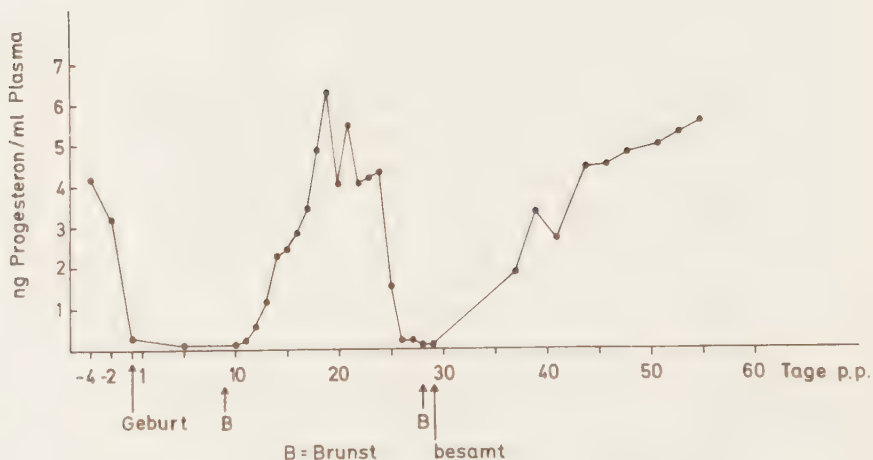


Abb. 22 Kuh "Kalidel": Progesteronwerte im Blut während der Post-partum-Phase nach der Behandlung mit CB-154 vor der Geburt

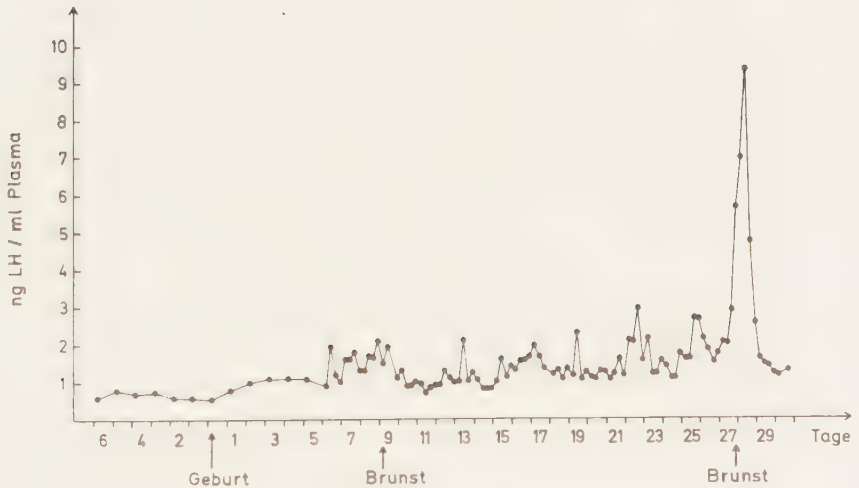


Abb. 23 Kuh "Kalidel": LH-Werte im Blut während der Post-partum-Phase nach Behandlung mit CB-154 vor der Geburt

Die Proben für die Bestimmung der LH-Werte wurden ab dem 6. Tag p.p. in sechsständlichem Abstand mit Hilfe eines Dauerkatheters entnommen. Man sieht aus der Abb. 23, daß sich die Werte bis zum Tag 27 immer auf einem etwa gleichbleibenden Niveau zwischen 1 und 3 ng/ml bewegen. Am Tag 28 fällt ein signifikanter Anstieg bis auf einen Wert von 9,9 ng/ml auf.

Zu äußeren Brunsterscheinungen kam es am 9. und 28. Tag p.p.

Rektale Palpation am 9. Tag p.p.: rechtes Uterushorn etwa unterarmstark, höckrige Oberfläche, linkes Ovar ohne Funktionsgebilde, rechtes Ovar zwei kleine feste Gebilde. Am Tag 13 wurden leichte Blutungen aus der Vulva beobachtet. Rektale Untersuchung am Tag 20: rechtes Uterushorn noch etwas derbwandig; die Uterusinvolution kann ansonsten als abgeschlossen angesehen werden. Am rechten Ovar war ein kleines Bläschen zu palpieren. Tag 28: Uterus stark kontrahiert, am rechten Ovar Follikel.

Tag 29: gegen Abend war Follikel gesprungen.

Besamung erfolgte am Tag 29 vormittags. Die Kuh "Kalidel" hat nicht nachgerindert. Die Trächtigkeit wurde durch rektale Palpation 10 Wochen nach der Besamung festgestellt.

Bei den Progesteron- und LH-Werten der Kuh "Kafeil" fällt nur ein LH-Anstieg am Tag 15 auf.

Klinisch gesehen bildet die Kuh "Kafeil" in der Post-partum-Phase eine Ausnahme, da bei ihr im Gegensatz zu den anderen fünf Tieren die Nachgeburt nicht spontan abgegangen ist. Die Nachgeburt war auch manuell nicht zu lösen; es wurden deshalb antibiotische Uteruseinlagen gemacht. Auch nach 10 Tagen war die Nachgeburt noch nicht zu entfernen. Am 14. Tag p.p. konnte die Nachgeburt entfernt werden. Bei der rektalen Palpation nach 20 Tagen konnte der Uterus noch nicht umfaßt werden, die Ovarien waren nicht zu palpieren, beim Massieren des Uterus kam Eiter aus der Scheide. Die Kuh wurde daraufhin aus dem Versuch ausgeschlossen.

Die Plasmakonzentrationen für Progesteron und LH bei der Kuh "Rojo" sind aus den Abb. 24 und 25 ersichtlich.

Bei den Progesteronwerten kommt es am Tag 10 zu einem Anstieg auf 3,7 ng/ml. Vom Tag 16 an fallen die Progesteronwerte steil ab und steigen ab dem Tag 21 wieder an auf Werte zwischen 5 und 7 ng/ml.

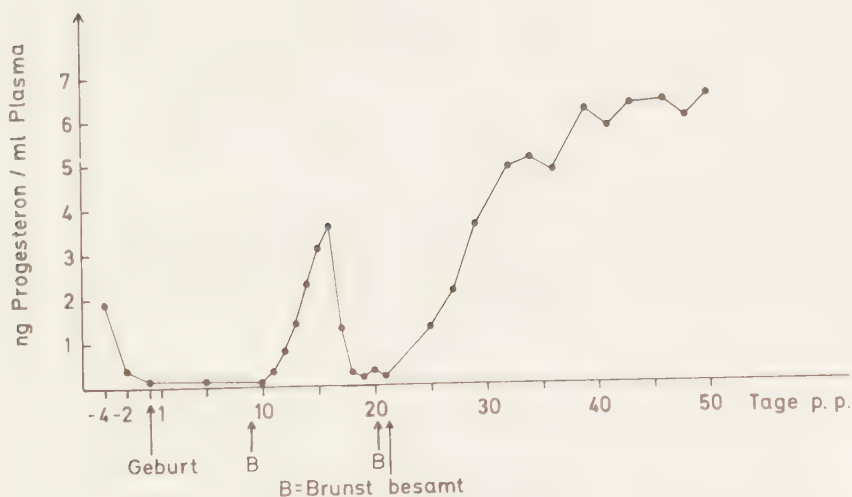


Abb. 24 Kuh "Rojo" Progesteronwerte im Blut während der Post-partum-Phase nach Behandlung mit CB-154 vor der Geburt

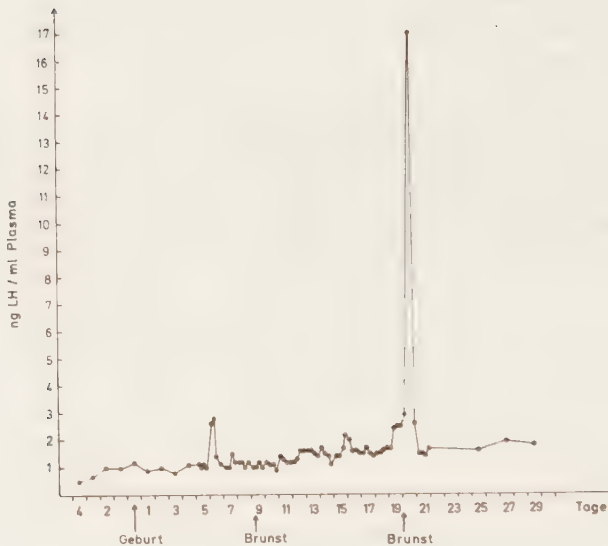


Abb. 25 Kuh "Rojo": LH-Werte im Blut während der Post-partum-Phase nach Behandlung mit CB-154 vor der Geburt

Die Proben für die LH-Bestimmung wurden vom Tag 5 an in sechsständlichem Abstand mit Hilfe eines Dauerkatheters entnommen. Wie aus Abb. 25 ersichtlich, kommt es am Tag 20 zu einem steilen Anstieg bis auf einen Wert von 17 ng/ml.

Äußere Brunsterscheinungen waren am Tag 9 und 20 zu beobachten. Die Brunsterscheinungen am Tag 9 waren nicht so deutlich wie die übrigen beobachteten Brunsten.

Rektale Palpation am Tag 5: rechtes Uterushorn etwa 15 cm im Durchmesser, derbwandig; am linken Ovar Follikel in Ausbildung.

Tag 9: linkes Ovar Follikel. Am Tag 11 wurde blutiger Ausfluß aus der Vulva beobachtet.

Rektal war am linken Ovar eine stattgehabte Ovulation zu palpieren. Rektale Palpation am

Tag 20: linkes Ovar Follikel, Uterus stark kontrahiert, Uterusinvolution abgeschlossen.

Tag 21: Follikel gesprungen.

Die Besamung erfolgte am Tag 21 vormittags.

Die Trächtigkeit wurde durch rektale Palpation 8 Wochen nach der Besamung bestätigt.

5. Diskussion

Die Verlaufskurve der Aktivität der untersuchten lysosomalen Enzyme zeigt, daß es im Zuge des Trockenstellens zu einer allmählichen Aktivitätszunahme kommt, die über das Trockenstellen hinausreicht und bei der sauren Phosphatase am 18. Tag des Trockenstehens sein Maximum erreicht. Bei beiden Enzymen nimmt die Aktivität gegen Ende des Trockenstehens wieder ab, beim Kathepsin D allerdings früher als bei der sauren Phosphatase. Die individuellen Schwankungen in der Aktivität während des Trockenstellens dürften durch den unterschiedlich starken Milchstau zu erklären sein. HELMINEN & ERICSSON (1971) haben bei der Ratte bewiesen, daß der Milchstau allein die auslösende Ursache für die Rückbildung der Milchdrüse ist. Zu dem unterschiedlich starken Milchstau kommt es dadurch, daß einige Tiere zum Zeitpunkt des Trockenstellens noch relativ viel Milch geben, es also zu einem starken Milchstau kommt, wenn eine oder mehrere Melkzeiten ausgelassen werden, während andere Tiere praktisch schon "abgemolken" sind, wenn sie zum Trockenstellen kommen oder aber sogar früher als normal trockengestellt werden müssen. Dies und die Tatsache, daß die saure Phosphatase sehr empfindlich ist, dürfte die Erklärung für die sehr starken individuellen Schwankungen, gerade bei der sauren Phosphatase, sein.

SCHAMS et al. (1973) stellten bei ihren Versuchen mit dem Prolaktinhemmer CB-15⁴ fest, daß die Kolostralmilch der behandelten Tiere eine andere Zusammensetzung aufwies als die von un-

behandelten. Der Laktosegehalt war niedriger, der Proteingehalt höher, zudem trat die Komponente "X" auf, die im Elektropherogramm vor der γ -Caseinfraktion liegt und sonst in normaler Kolostralmilch oder Milch nicht zu finden ist (KIRCHMEIER 1974). Aufgrund dieser Feststellungen nahmen wir an, daß es durch die Prolaktinhemmung zu einer Milchsynthesestörung mit gleichzeitiger Regression am Euter kommt. Da für solche regressiven Phänomene nach neueren Ergebnissen stärkere Aktivitäten lysosomaler Enzyme charakteristisch sind (COWIE, TINDAL 1971), hätte die Aktivität der lysosomalen Enzyme über die Geburt hinaus erhöht sein können. Beim Vergleich der Enzymaktivitäten im Kolostrum der neun Tiere zeigt sich, daß es bei allen zu einer sehr schnellen Abnahme der Aktivität der lysosomalen Enzyme nach der Geburt kommt. Da ich die Enzymaktivitäten nicht anhand von Biopsieproben bestimmen konnte, sondern nur aus dem Eutersekret, mußte ich die Enzymaktivität auf eine gewisse Menge Milch bzw. Sekret beziehen, z.B. auf 1 ml. Durch die Regressionsvorgänge im Laufe des Trockenstellens kommt es zu einer erhöhten Enzymaktivität an sich, gleichzeitig aber auch zu einer Eindickung des Sekretes, d.h. es befinden sich im ml dieses Sekretes mehr Zellen als in der normalen Milch. Der umgekehrte Effekt dürfte sich nach der Geburt abspielen, wo das Sekret immer dünnflüssiger wird. Biopsieproben wären objektiver, waren aber aus technischen Gründen nicht durchführbar.

Untersuchungen am Chemisch-Physikalischen Institut in Weihenstephan zeigten, daß die Komponente "X" im Kolostrum unterschiedlich stark auftrat und zwar bei allen, sowohl den behandelten als auch den unbehandelten Tieren. Zuvor muß gesagt werden, daß die Kühe "Kalipri" und "Kaido" zwar mit CB-154 behandelt worden waren, aber mit einer Charge, die vermutlich zu lange gelagert war. Die Prolaktinwerte blieben auch nach der Injektion ganz normal; es trat keinerlei Hemmung auf, so daß wir diese Tiere als Kontrolltiere verwendeten. Daß auch bei diesen beiden Kühen die Komponente "X" vorhanden ist, könnte eventuell eine unspezifische Wirkung der Injektionen sein, da nach KIRCHMEIER (persönliche Mitteilungen) die verschiedensten Störungen (z.B. Eiweißmangel, Vergiftung mit Aflatoxin usw.) ein Auftreten dieser Komponente "X" bewirken können. Welche Zusammenhänge diesbezüglich bestehen, ist noch unklar. Wir können nur feststellen, daß diese Komponente "X", die sonst nur im Sekret trocknender, unbehandelter Tiere zu finden ist, auch im Kolostrum von Tieren auftrat, bei denen Prolaktin nicht gehemmt war.

SCHAMS & KARG (1969 a) fanden in sämtlichen untersuchten Fällen kurz vor der Geburt eine sehr markante Erhöhung des Prolaktinspiegels. Daß dieser Peak für die Geburt weder funktionelle noch kausale Bedeutung besitzt, sondern lediglich als Symptom zu werten ist, stellten bereits 1971 KARG & SCHAMS fest. Auch die Tatsache, daß bei

allen sechs von mir behandelten Kühen keine Komplikationen bei der Geburt aufgetreten sind, stimmt mit dieser Feststellung überein. Ebenso scheint dieser Gipfel mit dem Laktationsbeginn nicht zusammenzuhängen, da oben genannte Autoren auch ohne vorzeitiges Auftreten des Prolaktatingipfels die Laktation vor der Geburt auslösen konnten. Daß die Prolaktinhemmung aber auf die Laktationsleistung einen negativen Einfluß hat, dürfte aufgrund der vorliegenden Ergebnisse nicht in Zweifel gezogen werden. Die großen individuellen Schwankungen in der Minderung der Laktationsleistung könnten mit dem Alter der Tiere zusammenhängen. Die beiden Tiere, die durch die Prolaktinhemmung am stärksten mit ihrer Milchleistung zurückgingen, sind auch die beiden ältesten (Kuh "Kalidel" 9-jährig, Kuh "Kakwie" 9-jährig), während die anderen zwischen vier und sechs Jahre alt sind.

Die Beziehung Alter der Tiere, Laktationshemmung und Zeitpunkt der Behandlung ist, mit Berücksichtigung auch der Tiere von früheren Versuchen mit dem Prolaktinhemmer am hiesigen Institut, in der Tabelle 5 dargestellt.

Die Laktationshemmung durch CB-154 bei Tieren über 6 Jahren ist hoch signifikant stärker gegenüber Tieren unter 6 Jahren. Eine Erklärung dieser Tatsache dürfte darin zu suchen sein, daß das Eutergewebe von älteren Tieren eine geringere Regenerationsfähigkeit besitzt.

Auch der Zeitpunkt der Verabreichung des Blockers scheint von wesentlicher Bedeutung zu sein. Bei den beiden Tieren, die am stärksten auf die Behandlung reagierten, wurde die 1. Injektion vier bzw. neun Tage vor der Geburt verabreicht, bei

Tabelle 5

Beziehung zwischen Alter der Tiere, Laktationshemmung und Zeitpunkt der Behandlung (Dosis und Anzahl der Injektionen sind aus Gründen der Übersicht nicht mit berücksichtigt)

	Alter (Jahre)	Laktations- hemmung (in %)	Behandlung von a.p.	bis p.p.	
Tiere über 6 Jahre					
Nyschlos	12	68,9	15	3	a.p.
Kaliro	10	95,0	9	3	p.p.
Adria	9	47,2	9	0	
Kakwie	9	85,7	5	0	
Kalidel	9	94,9	4	1	p.p.
Tiere unter 6 Jahre					
Nydo	6	16,3	14	6	a.p.
Kafeil	6	3,2	13	2	a.p.
Lado	5	46,9	15	3	a.p.
Rojo	5	46,5	17	1	a.p.
Kakro	4	10,1	18	1	p.p.

den vier anderen lag die 1. Injektion zwischen dem 13. und 18. Tag ante partum. Interessant ist auch, daß die beiden oben genannten Tiere noch am Tag der Geburt eine Injektion bekamen, die Kuh "Kalidel" auch noch am 1. Tag p.p. . Auffallend war, daß die Milch der Kuh "Kakro" am Tag der Geburt starke Blutbeimengungen aufwies, am 1. Tag p.p. normalen Kolostralmilchcharakter hatte und am 2. Tag p.p. nach einer erneuten

CB-154-Injektion am 1. Tag p.p. wieder Blutbeimengungen aufwies. Die Milch war kakaofarben und wurde erst am 9., 10. Tag p.p. wieder normal. Die Milch der Kuh "Kalidel" war am Tag der Geburt etwas rötlich gefärbt, ab dem 4. Tag p.p. nahm die Blutbeimengung zu, normal wurde die Milch erst am 8. Tag p.p. . Beide genannten Tiere erhielten am 1. Tag p.p. noch eine Injektion. Ob diese Blutbeimengungen in der Milch etwas mit der Prolaktinhemmung zu tun haben, ist fraglich, da auch unter physiologischen Bedingungen ein sog. "Blutmelken" nach der Geburt auftritt und auch ohne Behandlung nach 10-14 Tagen wieder verschwindet. Die Anzahl der Injektionen scheint ohne Bedeutung zu sein, da gerade die Tiere mit den meisten Injektionen am schwächsten reagiert haben.

Aufgrund dieser Ergebnisse läßt sich feststellen, daß Prolaktin ein essentielles Hormon für die Laktogenese ist, die allerdings in dieser Phase mit mammogenetischen Phänomenen auf das Engste verflochten scheint.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch VARGA, LUTTER-BECK, PRYOR, WENNER & ERB (1972) bei Versuchen mit CB-154 am Menschen. 60 Frauen, die ihre Kinder nicht säugten, wurden in drei Gruppen zu je 20 eingeteilt. Eine Gruppe bekam CB-154, eine Gruppe Stilboestrol und die dritte Placebo. Der Versuch begann gleich nach der Geburt. Bei den beiden ersten Gruppen trat bis auf jeweils eine Patientin keine Schwellung der Brüste und kein Milchstau in den Brüsten auf. Bei der dritten Gruppe zeigten 18 Patientinnen Schwellungen und Milchstau. Also ein Beweis dafür, daß man mit Oestrogenen, aber auch mit CB-154 die puerperale

Laktation bei der Frau unterdrücken kann.

In früheren Versuchen mit CB-154 konnten wir beobachten, daß um den Zeitpunkt der Geburt mit CB-154 behandelte Kühe früher zur 1. Brunst kamen. Dieses Phänomen sollte hormonanalytisch besser erfaßt werden. Deshalb wurden palpatorische Kontrollen der Ovarien durchgeführt und die LH- und Progesteronwerte im Plasma untersucht. Zuvor muß noch gesagt werden, daß die LH-Werte der Kühe "Nydo", "Kakro" und "Kakwie" nur bedingte Aussagekraft haben, da die Blutproben nur täglich und später nur noch dreimal wöchentlich genommen wurden. Nach SCHAMS & KARG (1969 c) müssen nämlich, um etwaige LH-Gipfel zu erfassen, die Blutproben in mindestens 6 stündlichem Abstand genommen werden, wie dies auch bei der Kuh "Kallidel" und "Rojo" geschah. Die Kuh "Kafeil" wurde wegen Nachgeburtungsverhaltens aus dem Versuch genommen.

Alle behandelten Tiere zeigten am 9. Tag p.p. Brunsterscheinungen. Die Brunsterscheinungen, wie Aufspringen auf andere Tiere, Duldung, Unruhe, Auftreten von Brunstschleim und Ödematisierung der Vulva, waren, mit Ausnahme der 1. Brunst der Kuh "Rojo", stark ausgeprägt. Bei der Kuh "Rojo" war am 9. Tag p.p. nur Brunstschleim und vermehrtes Interesse an der Umwelt, aber kein Aufspringen und keine Duldung festzustellen. Wenn man den leichten LH-Anstieg am 6. Tag p.p. (siehe Abb. 25) als präovulatorischen LH-Peak ansprechen möchte, könnte die Brunst am 9. Tag bereits im Ausklingen gewesen sein. Am 11. Tag p.p. wurden bei ihr leichte Blutungen aus der Vulva beobachtet. Die 1. Brunst

liegt, im Vergleich zur Herde (18 unbehandelte Tiere), bei der die 1. Brunst im Durchschnitt am 59. Tag p.p. auftrat, um 50 Tage früher. WAGNER (1968), WAGNER & HANSEL (1969) geben für die 1. Brunst 14 Tage p.p. an, MORROW et al. (1969 a) 32-76 Tage p.p. und WILTBANK & COOK (1958) 54 Tage p.p. . Man kann also feststellen, daß bei den mit CB-154 behandelten Tieren die 1. Brunst bedeutend früher auftrat als bei unbehandelten Tieren. (Diese Feststellung gilt für Tiere, die eine normale Geburt und eine normale Uterusinvolution zeigten und zweimal täglich gemolken wurden). Eine Erklärung für das frühere Auftreten der 1. Brunst könnte man in einer negativen Beziehung zwischen Milchleistung und Fruchtbarkeit suchen, wie dies auch MORROW et al. (1969 b) vermuten, daß eben durch die verminderte Milchleistung das Zyklusgeschehen früher in Gang kommt. Dagegen spricht allerdings der Befund, daß die Tiere, bei denen die Milchleistung stark vermindert war, auch nicht früher zur Brunst kamen, als die, bei denen die Laktation nur gering gehemmt war. Die Tatsache, daß die 1. Brunst bei den fünf Tieren regelmäßig am 9. Tag p.p. auftrat, kann zufällig sein. Um hierüber Aussagen machen zu können, müßte das Tiermaterial größer sein. Die Frage, ob und in wie weit man bezüglich der 1. Brunst Parallelen zur "Fohlenrosse" beim Pferd ziehen darf, sei nur angedeutet.

Den LH- und Progesteronwerten nach zu urteilen, scheint die 1. Brunst, abgesehen von der Kuh "Kalidel" und der Kuh "Rojo", nicht mit einer Ovulation verbunden gewesen zu sein. Bei der Kuh "Kalidel" kommt es bereits im Anschluß an die 1. Brunst zu einem normalen Zyklus von

19 Tagen. Bei den übrigen Tieren kommt es nach 6, 10 bzw. 11 Tagen zu einer 2. Brunst, ohne daß es zu einer Luteinisierung gekommen wäre. Bei der Kuh "Kakro" kommt es sogar 7 Tage nach der 2. Brunst zu einer erneuten Brunst. Bei der Kuh "Nydo" tritt im Anschluß an die 2., bei der Kuh "Kakro" im Anschluß an die 3. Brunst eine Luteinisierung ein. Eine Besonderheit zeigt die Kuh "Kakwie". Bei ihr kam es trotz relativ hoher Progesteronwerte zu einer ausgeprägten Brunst. Während man für die Brunst Progesteronwerte unter 1,0 ng/ml Plasma annimmt (STABENFELDT, EWING & MC DONALD 1969; HOFFMANN & KARG 1969), findet man bei der Kuh "Kakwie" etwa 2,0 ng/ml Plasma. Das ist für ein langsames Ingangkommen des Zyklusgeschehens ein relativ hoher Wert. Vermutlich hat es sich bei dem Tier um eine GelbkörpERCyste gehandelt. Diese Cyste wurde am 32. Tag p.p. abgedrückt, worauf es zu einer deutlichen Brunst mit Besamung kam.

Bezüglich der ersten Brunsten nach der Geburt kann man sagen, daß es sich mit Ausnahme der Kuh "Kalidel" um Brunsten mit ungewöhnlich kurzen Brunstintervallen handelt. MORROW et al. (1966) gaben als Länge für den 1. Zyklus 12 bis 17 Tage und für den 2. 18 bis 23 Tage an. Ebenfalls auffällig ist, daß bei den behandelten Tieren, mit zwei Ausnahmen, Ovulationen erst spät auftraten. WAGNER (1968) gibt als Zeitpunkt für die erste Ovulation 10 bis 14 Tage p.p. an, übereinstimmend mit MORROW et al. (1966) mit 10 bis 15 Tagen p.p. . Diese Ovulationen gehen vorwiegend mit stillen Brunsten einher.

Während also die Post-partum-Phase im Normalfall durch frühe Ovulationen mit vorwiegend stiller

Brunst und fast normaler Zykluslänge gekennzeichnet ist, traten bei den behandelten Tieren häufig Brunsten ohne Ovulationen in sehr kurzen Intervallen auf.

VARGA, WENNER & DEL POZO (1973) haben beim Menschen das Galaktorrhoe - Amenorrhoe Syndrom nach Versagen der herkömmlichen Therapiemaßnahmen mit CB-154 mit gutem Erfolg behandelt. Vier bis fünf Wochen nach Beginn der Behandlung verschwand die Galaktorrhoe und es kam zur ersten Menstruationsblutung mit nachfolgenden normalen Zyklen. Eine Patientin wurde 11 Monate nach Beginn der Behandlung schwanger und gebar ein gesundes Kind. Die Autoren nehmen an, daß die Prolaktinhemmung einen Triggereffekt auf die Produktion von Gondotropin-Releasing-Hormon im Hypothalamus ausübt. Dadurch kommt es zu einer vermehrten Sekretion von Gonadotropinen aus der Hypophyse, die wiederum zu einer Menstruation und Ovulation führen. Obwohl Untersuchungen von HOFFMANN, SCHAMS, GIMENEZ, ENDER, HERRMANN & KARG (1972) beim Rind gezeigt haben, daß CB-154 spezifisch die Prolaktinfreisetzung verhindert, während die Ausschüttung anderer Hormone wie LH, Thyroideastimulierendes Hormon (TSH), Progesteron, Oestrogene und Corticoide vor, während und nach der Geburt nicht beeinträchtigt wird, muß man bei einer Gegenüberstellung der beiden Spezies berücksichtigen, daß beim Menschen eine Laktationsazyklie besteht, während es beim Rind trotz hoher Laktationsleistung zu einer erneuten Konzeption kommen kann. Es dürften also demnach auch bei den beiden Spezies verschiedene hormonelle Zusammenhänge bestehen.

Die Besamungen der behandelten Tiere wurden zuerst bei der 4., dann bei der 3. und schließlich schon bei der 2. Brunst durchgeführt. Die Tiere nahmen, mit einer Ausnahme, schon bei der 1. Besamung auf, so daß die 1. Besamung durchschnittlich am 30. Tag p.p. stattfand. MORROW et al. (1969 d) fanden bei einem Tiermaterial von 190 Kühen als Zeitpunkt für die 1. Besamung durchschnittlich den 83. Tag p.p., bei Kühen mit normaler Geburt; die Konzeptionsrate betrug 58 %. Die Mehrzahl der Tiere hat zwischen dem 61. und 105. Tag p.p. aufgenommen. Bei diesen Untersuchungen fanden MORROW et al. (1969 d) auch eine strenge Beziehung zwischen Fruchtbarkeit und Milchleistung. Je höher die Leistung der Tiere war, umso länger war das Intervall von der Geburt bis zur Konzeption. Auch die Zahl der Besamungen nahm in Relation zu der Milchleistung zu, von 1,4 Besamungen pro Konzeption unter 12.000 pounds (=5220 kg) bis zu 2,9 Besamungen pro Konzeption über 16.000 pounds (=6960 kg) Milchleistung.

Bezüglich der Fruchtbarkeit läßt sich also sagen, daß eine Konzeption im Durchschnitt am 35. Tag p.p. bei den mit CB-154 behandelten Tieren schon eine deutliche Verkürzung der Postpartum-Phase darstellt gegenüber einer durchschnittlichen Konzeption am 114. Tag p.p. bei MORROW et al. (1969 d). Sicherlich ist ein Grund dafür, wie oben angeführt, die verminderte Milchleistung. Eine direkte Wirkung der Prolaktin-hemmung ist aber auch nicht auszuschließen.

6. Zusammenfassung

1. Es wurden Milchproben von neun Kühen in bestimmten Zeitabständen durch Handmelken aus jeweils einem Euterviertel gewonnen und in dem Eutersekret die Aktivität der sauren Phosphatase, des Kathepsin D und bei einem Tier auch der β -Glucuronidase bestimmt. Fünf der neun Tiere wurden mit dem Prolaktinhemmer CB-15⁴ behandelt. Im Plasma der behandelten Tiere wurden die Hormone Prolaktin, Luteinisierungshormon und Progesteron bestimmt.
2. Bei den Enzymen zeigte sich ein deutlicher Anstieg der Aktivität im Verlaufe des Trockenstehens. Nach der Geburt nahm die Aktivität sehr rasch ab. In den Enzymaktivitäten konnte zwischen den behandelten und unbehandelten Tieren kein Unterschied festgestellt werden.
3. Hinsichtlich der Auswirkung der Prolaktinhemmung auf die Laktationsleistung wurde eine Abnahme der Milchleistung gegenüber der Vorjahresleistung von 3,2 % bis 94,9 % (Mittelwert 49,05 %) festgestellt. Die Stärke der Laktationshemmung scheint vom Alter der Tiere und dem Zeitpunkt der Behandlung abhängig zu sein.
4. Bei den fünf mit dem Prolaktinhemmer CB-15⁴ behandelten Tieren wurde die erste Brunst am 9. Tag nach der Geburt beobachtet. Der folgende Zyklus, der nur in zwei Fällen aufgrund der Progesteronbefunde als postovulatorisch aufgefaßt wurde,

war verkürzt. Bei den übrigen Tieren der Herde wurde die 1. Brunst nach durchschnittlich 59 Tagen beobachtet. Die Besamungen wurden bei den behandelten Tieren bei der 4., der 3. bzw. schon bei der 2. Brunst durchgeführt. Im letzteren Falle erfolgte die früheste Konzeption am 21. Tag nach der Geburt.

S u m m a r y

1. Milk samples from nine cows were collected at certain intervals from one udder quarter by hand milking. The activity of acid phosphatase, of cathepsin D and in one animal of β -glucuronidase were determined in the udder secretion. Five of the nine animals were treated with the synthetic prolactin inhibitor CB-154. The hormones prolactin, luteinizing hormone and progesterone were determined in the plasma of the treated animals.
2. An obvious rise of enzymatic activity could be demonstrated during the dry period. After parturition the activity decreased abruptly. No difference in the enzymatic activity could be evaluated between treated and non-treated animals.
3. Considering the effect of prolactin inhibition on milk production, a decrease of production from 3.2 % to 94.9 % (mean 49.05 %) could be determined compared to the yield of the previous year. The intensity of the lactation inhibition seems to depend on the age of the animals and the time of treatment.
4. In the five animals treated with the prolactin inhibitor CB-154 the first oestrus was observed on the 9th day after parturition. The following oestrus cycle, which could twice be considered as postovulatory because of the progesterone results, was shortened. In the other cows of the

herd the first oestrus was observed in average after 50 days. The inseminations in the treated animals were carried out first during the 4th oestrus, then during the 3rd and eventually already during the 2nd oestrus. In the latter case the earliest conception occurred on the 21st day after parturition.

7. Literaturverzeichnis

BAKER, A.A. 1969

Post partum anoestrus in cattle
Austr. Vet. J., 45, 180

BALDWIN, R.L. 1966

Enzymatic activities in mammary gland
of several species
J. Dairy Sci. 49, 1533

BALDWIN, R.L., CHENG, W. 1969

Metabolite changes associated with the
initiation and maintenance of lactation
in rats and cows
J. Dairy Sci. 52, 523

BASSLER, R., FLORCHINGER, J. 1966 a

Histometrische Studien an der laktieren-
den Milchdrüse I. Laktation und physio-
logische Involution
Arch. Gynäk. 203, 366-399

BASSLER, R., FLORCHINGER, J. 1966 b

Histometrische Studien an der laktieren-
den Milchdrüse II. Experimentelle Milch-
stauung und vermehrtes Flüssigkeitsange-
bot durch Peristoninfusionen
Arch. Gynäk. 203, 400-422

BUCH, N.C., TYLER, W.J., CASIDA, L.E. 1955

Postpartum estrus and involution of the
uterus in an experimental herd of Holstein-
Friesian cows
J. Dairy Sci. 38, 73

CLAPP, H. 1937

A factor in the breeding efficiency in
cattle

Proc. Amer. Soc. Anim. Prod. p. 259

COWIE, A.T. 1961

The hormonal control of milk secretion

In: "Milk - the Mammary Gland and its
Secretion",

Vol. I, p. 163. Eds.: S. K. Kon and

A.T. Cowie

New York - London: Academic Press

COWIE, A.T. 1966

Anterior pituitary function in lactation

In: "The Pituitary Gland", ed. by Harris,
G.W., Donovan, B.T., vol 2, chap. 13,

London : Butterworths

COWIE, A.T. 1969

General hormonal factors involved in
lactogenesis

In: "Lactogenesis - the Initiation of Milk
Secretion at Parturition", ed. by Reynolds,
M., Folley, S.J., pp. 157-169,

Philadelphia, University of Pennsylvania
Press

COWIE, A.T., TINDAL, J.S. 1961

The maintenance of lactation in the goat
after hypophysectomie

J. Endocr. 23, 79

COWIE, A.T., TINDAL, J.S. 1971

Types of regression

In: "The Physiology of Lactation",
chap. 4, p. 169 by Edward Arnold,
London (Publishers) LTD

de DUVE, C., PRESSMANN, B.C., GIANETTO, R., WATTIAUX,
R., APPELMANS, F. 1955

Tissue fractionation studies 6. Intracel-
lular distribution patterns of enzymes
in rat-liver tissue
Biochem. J. 60, 604

DESLIN, L. 1952

Recherches sur le déterminisme des phéno-
mènes de sécrétion dans la glande mammaire
du rat
Annls. Endocr. 13, 120

DORUK, M. 1972

Über die Eigenschaften der β -Glucuronidase
in Kuhmilch
Diss. TU München 1972

FLÜCKIGER, E., WAGNER, H.R. 1968

2-Br- α - Ergokryptin: Beeinflussung von Fer-
tilität und Laktation bei der Ratte
Experientia 24, 1130

GIER, H.T., MARION, G.B. 1968

Uterus of the cow after parturition:
Involutional changes
Amer. J. Vet. Res. 29, 83

GORMAN, G.M., SWANSON, E.W. 1968

Effects of oxytocin administered during
the dry period on the succeeding lactation
J. Dairy Sci. 51, 60

GREENWOOD, F.C., HUNTER, W., GLOVER, J. 1963

Preparation of I 131-labelled human growth
hormone of high specific radioactivity
Biochem. J. 89, 114

HELMINEN, H.J., ERICSSON, J.L.E. 1968

Studies on mammary gland involution III.
Alteration outside auto- and heterophagocytic
pathways for cytoplasmic degradation
J. Ultrastructural Res. 25, 228-239

HELMINEN, H.J., ERICSSON, J.L.E. 1970

Quantitation of lysosomal enzyme changes
during enforced mammary gland involution
Expl. Cell. Res. 60, 419-426

HELMINEN, H.J., ERICSSON, J.L.E. 1971

Effects of enforced milk stasis on mammary
gland epithelium, with special reference
to changes in lysosomes and lysosomal en-
zymes
Expl. Cell. Res. 68, 411-427

HOFFMANN, B., KARG, H. 1970

Determination of progesterone in bovine
peripheral plasma by competitive protein-
binding
Annales d'Endocrinologie 31, 823

HOFFMANN, B. 1972

Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen Rind. Entwicklung von Meßverfahren und physiologischen Daten
Habilitationsschrift, TU München

HOFFMANN, B., SCHAMS, D., GIMENEZ, T., ENDER, M.L.,
HERRMANN, CH., KARG, H. 1972

Changes of progesterone, total oestrogens, corticosteroids, prolactin and LH in bovine peripheral plasma around parturition with special reference to the effect of endogenous corticoids and a prolactin inhibitor, respectively.
Acta endocr. 73, 385-395

KARG, H., SCHAMS, D. 1971

Discussion on prolactin levels in bovine blood under different physiological conditions
In: "Lactation", ed. by Falconer, I.R., Butterworths, London, p. 141

KIRCHMEIER, O. 1974

Publikation in Vorbereitung

KUHN, N.J. 1970

Control of lactogenesis and lactose biosynthesis.
Univ. of Nottingham, 1970, p. 161,
ed. by I.R. Falconer, London, Butterworths

LABHSETWAR, A.P., COLLINS, W.E., TYLER, N.J., CASIDA, L.E. 1964

Some pituitary-ovarian relationships in the periparturient cow
J. Reprod. Fertil. 8, 85

LEE, C.S., McDOWELL, G.H., LASCELLES, A.K. 1969

The importance of macrophages in the removal of fat from the involuting mammary gland

Res. vet. Sci. 10, 34-38

LU, K.H., KOCH, Y., MEITES, J. 1971

Direct inhibition by ergocornine of pituitary prolactin release

Endocrinol. 87, 667

LYONS, W.R., LI, C.H., JOHNSON, R.E. 1958

The hormonal control of mammary growth

Rec. Prog. Horm. Res. 14, 219

MALVEN, P.V., HOGE, W.R. 1971

Effect of ergocornine on prolactin secretion by hypophyseal homografts

Endocrinol. 88, 445

MAYBERRY, H.E. 1964

Macrophages in post-secretory mammary involution in mice

Anat. Rec. 149, 99-112

MENGE, A.C., MARES, S.E., TYLER, W.J., CASIDA, L.E. 1962

Variation and association among postpartum reproductive and production characteristics in Holstein-Friesian

J. Dairy Sci. 45, 233

MIZUNO, H. 1961

The changes of nucleic acids content in the mouse mammary glands in the course of involution and the effects of pregnancy, prolactin or progesterone on them

Endocr. jap. 8, 27-34

- MORROW, D.A., ROBERTS, S.J., McENTEE, K., GRAY, H.G. 1966
Postpartum ovarian activity and uterine
involution in dairy cattle
J. Amer. Vet. Med. Ass. 149, 1596
- MORROW, D.A., ROBERTS, S.J., McENTEE, K. 1969 a
A review of postpartum ovarian activity
and involution of the uterus and cervix
in cattle
The Cornell Veterinarian 59, 135
- MORROW, D.A., ROBERTS, S.J., McENTEE, K. 1969 b
Postpartum ovarian activity and involu-
tion of the uterus and cervix in dairy
cattle
I. Ovarian activity
The Cornell Veterinarian 59, 173
- MORROW, D.A., ROBERTS, S.J., McENTEE, K. 1969 c
Postpartum ovarian activity and involu-
tion of the uterus and cervix in dairy
cattle
II. Involution of uterus and cervix
The Cornell Veterinarian 59, 190
- MORROW, D.A., ROBERTS, S.J., McENTEE, K. 1969 d
Postpartum ovarian activity and involu-
tion of the uterus and cervix in dairy
cattle
III. Days nongravid and services per
conception
The Cornell Veterinarian 59, 199

NANDI, S. 1959

Hormonal control of mammosgenesis and lacto-
genesis in the C_3H/He Crgl. mouse
Univ. Calif. Publs. Zool. 65, 1-128

NEUMANN, F., VON BERSWORDT - WALLRABE, ELGER, W.,
STEINBECK, H., HAHN, J.D., KRAMER, H. 1970
Aspects of androgen-dependent events as
studied by antiandrogens
Recent Progr. Hormone Res. 26, 9

OXENREIDER, S.L. 1968

Effects of suckling and ovarian function
on postpartum reproductive activity in
beef cows
Amer. J. Vet. Res. 29, 2099

RIDDLE, O., BATES, R.W., DYKSHORN, S.W. 1933

The preparation, identification and assay
of prolactin - a hormone of the anterior
pituitary
Am. J. Physiol. 105, 191

RIVERA, E.M. 1964

Differential responsiveness to hormones
of C_3H and a mouse mammary tissues in
organ culture
Endocrinol. 74, 853

RÜSSE, M. 1968

Beziehungen zwischen Uterusinvolution
und Konzeptionsfähigkeit beim Rind
Zuchthygiene 3, 183

RUFFER, L. 1973

Zur Beeinflussung von Phosphatasen durch
Aflatoxin B₁ und dessen Derivate
Diss. TU München 1973

SCHAMS, D., KARG, H. 1969 a

Radioimmunologische Bestimmung von Pro-
laktin im Blutserum vom Rind
Milchwissenschaft 24, 263

SCHAMS, D., KARG, H. 1969 b

Radioimmunologische LH-Bestimmung im
Blutserum vom Rind unter besonderer
Berücksichtigung des Brunstzyklus
Acta endocrinologica 61, 96

SCHAMS, D., KARG, H. 1969 c

Zeitlicher Verlauf und analytische
Erfäßbarkeit des endogen bzw. exogen
erhöhten Blutspiegels an Luteinisie-
rungshormon beim Rind
Zuchthygiene 4, 61

SCHAMS, D., REINHARDT, V., KARG, H. 1973

Spezifische Manipulation der Prolaktin-
sekretion beim Rind und deren Auswirkung
auf die Laktation
Milchwissenschaft 28, 405-418

SCHMIDT, G.H., CHATTERTON Jr., R.T., HANSEL, W. 1962

Histological changes during involution
of the mammary glands of ovariectomized
and intact lactating goats
J. Dairy Sci. 45, 1380-1382

- SEKHRI, H.K., PITELKA, D.R., DeOME, K.B. 1967
Studies of mouse mammary glands
I. Cytomorphology of the normal
mammary gland
J. nat. Cancer Inst. 29, 459-490
- SHAAR, C.J., CLEMENS, J.A. 1972
Inhibition of lactation and prolactin
secretion in rats by ergot alkaloids
Endocrin. 90, 301
- SHELESNYAK, M.C. 1954
Ergotoxine inhibition of deciduoma
formation and its reversal by pro-
gesterone
Am. J. Physiol. 179, 301
- SHELESNYAK, M.C. 1956
Progesterone reversal of ergotoxine
induced suppression of early pre -
implantation - pregnancy
Acta endocr. (Kbh.) 52, 17
- SMITH, A., WHEELLOCK, I.V., DODD, F.H. 1966
Effect of milking throughout pregnancy
on milk yield in the succeeding lacta-
tion
J. Dairy Sci. 49, 895
- SPANN, J. 1954
Die Trockenzeit der Kühe vor dem Kal-
ben
Züchtungskunde 25, 1-17

- STABENFELDT, G.H., EWING, L.L., McDONALD, L.E. 1969
Peripheral plasma progesterone levels
during the bovine estrous cycle
J. Reprod. Fert. 19, 433
- STRICKER, P., GRUETER, F. 1928
Action du lobe antérieur de l'hypo-
physe sur la montée laiteuse
C.r. Séanc. Soc. Biol. 29, 1978-1980
- SWANSON, E.W., PARDUE, F.E., LONGMIRE, D.B. 1967
Effect of gestation and dry period
on deoxyribonucleic acid and alveolar
characteristics of bovine mammary
glands.
J. Dairy Sci. 50, 1288
- TURNER, C.W. 1952
The Mammary Gland
1. The Anatomy of the Udder of Cattle
and Domestic Animals
Columbia, Missouri: Lucas Brothers
- VARGA, L., LUTTERBECK, P.M., PRYOR, J.S., WENNER, R.,
ERB, H. 1972
Suppression of puerperal lactation
with an ergot alkaloid: a doubleblind
study
British Med. J., 2, 743-744
- VARGA, L., WENNER, R., DEL POZO, E. 1973
Treatment of galactorrhoea-amenorrhoea
syndrome with Br-ergocryptine (CB-154)
Restoration of ovulatory function and
fertility
Amer. J. of Obstetrics and Gynecology
117, 75

WAGNER, W.C. 1968

Reproductive physiology of the post-partum cow

Ph. D. Thesis, Cornell Univ.

WAGNER, W.C., HANSEL, W. 1969

Reproductive physiology of the post-partum cow

I. Clinical and histological findings

J. Reprod. Fert. 18, 493

WAGNER, W.C., OXENREIDER, S.L. 1971

Endocrine physiology following parturition

J. Anim. Sci. 32, 1

WALDSCHMIDT, M. 1973

Metabolite levels and enzyme activities in the bovine mammary gland at different stages of lactation

J. Dairy Res. 40, 7-15

WALDSCHMIDT, M., RILLING, St., 1973

Metabolite levels and enzyme activities in the bovine mammary gland in different stages of lactation

II. Some metabolite levels and enzyme activities of the citric acid cycle

J. Dairy Res. 40, 361

WILTBANK, J.N., COOK, A.C. 1958

The comparative reproductive performance of nursed and milked cows

J. Anim. Sci. 17, 640

WOESSNER Jr., J.F. 1969

The physiology of the uterus and mammary gland

In: "Lysosomes in Biology and Pathology"
edited by Dingle, J.T., Fell, H.B. 1, 11
Amsterdam, London: North-Holland
Publishing Co

ZEILMAKER, G.H., CARLSEN, R.A. 1962

Experimental studies on the effect of
ergocornine methanesulphonate on the
luteotrophic function of the rat
pituitary gland

Acta endocr. (Kbh.) 41, 321

Herrn Professor Dr. Heinrich Karg möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas, seine wissenschaftlichen Anregungen, sowie für die großzügigen Arbeitsmöglichkeiten an seinem Institut meinen besonderen Dank sagen.

Insbesondere danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. Dieter Schams für die methodische Einarbeitung und die zahlreichen Ratschläge und Diskussionen.

Frau Erna Eschenbach und Herrn Jakob Oberpriller möchte ich für die Erstellung der Abbildungen danken.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Instituts und den Angestellten der Versuchstation Veitshof für die zahlreichen kleinen Hilfestellungen recht herzlich bedanken.

Während des Zeitraumes der Anfertigung der Dissertation wurde ich durch ein Stipendium nach dem Graduiertenförderungsgesetz finanziell unterstützt, wofür ich mich an dieser Stelle herzlich bedanke.

L e b e n s l a u f

Am 9. März 1946 wurde ich, Josef Stangl, als siebtes Kind der Landwirtseheleute Ambros und Anna Stangl, geb. Lang, in Rotzendorf, Kreis Neustadt W/N geboren.

Nach vier Jahren Volksschule besuchte ich von 1956 bis 1965 das Humanistische Gymnasium der Benediktiner in Metten, wo ich auch die Reifeprüfung ablegte.

Meinen Wehrdienst leistete ich von 1965 bis 1967 in Oberviechtach und Regen ab.

Im Herbst 1967 begann ich an der Universität München mit dem Studium der Tiermedizin, das ich im September 1972 mit dem Staatsexamen abschloß. Meine Bestallung als Tierarzt erhielt ich im Dezember 1972.

Vom November 1972 bis Januar 1974 arbeitete ich am Institut für Physiologie der Süddeutschen Versuch- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft der Technischen Hochschule München an der vorliegenden Arbeit.

